

Libros de **Cátedra**

Introducción a la Química Medicinal

Luciana Gavernet (coordinadora)

FACULTAD DE
CIENCIAS EXACTAS

e
exactas


EDITORIAL DE LA UNLP



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA

INTRODUCCIÓN A LA QUÍMICA MEDICINAL

Luciana Gavernet

(coordinadora)

Facultad de Ciencias Exactas



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE LA PLATA


EduLP
EDITORIAL DE LA UNLP

Al Prof. Dr. Luis Bruno Blanch.

Agradecimientos

Los autores de este libro queremos agradecer al Profesor Extraordinario Dr. Luis Bruno-Blanch por su contribución a la formación en Química Medicinal de los alumnos de la carrera de Farmacia de la Facultad de Ciencias Exactas (UNLP) durante ininterrumpidos 40 años dedicados a la docencia universitaria. Los continuos esfuerzos del Dr. Bruno-Blanch constituyen un aporte fundamental para el desarrollo de las Ciencias Químicas y Farmacéuticas tanto a nivel científico, como a nivel de formación de docentes-investigadores. Su devoción a la formación de recursos humanos se ha traducido, recientemente, en la creación del Laboratorio de Investigación y Desarrollo de Bioactivos (LIDeB) de la UNLP.

Índice

Prólogo _____	7
<i>Luis E. Bruno Blanch</i>	
Introducción _____	8
<i>Carolina L. Bellera, Mauricio E. Di Ianni y Luciana Gavernet</i>	
Capítulo 1	
Descubrimiento y desarrollo de fármacos _____	11
<i>Carolina L. Bellera y Mauricio E. Di Ianni</i>	
Capítulo 2	
Origen de los fármacos _____	22
<i>Mauricio E. Di Ianni y Carolina L. Bellera</i>	
Capítulo 3	
Síntesis de fármacos _____	34
<i>Laureano L. Sabatier, María L. Villalba y Luciana Gavernet</i>	
Capítulo 4	
Descriptores moleculares _____	57
<i>Melisa E. Gantner</i>	
Capítulo 5	
Métodos indirectos. Búsqueda racional de fármacos _____	72
<i>Lucas N. Alberca y Alan Talevi</i>	
Capítulo 6	
Métodos directos. Búsqueda y diseño racional de fármacos _____	91
<i>Melisa E. Gantner, Pablo H. Palestro y Luciana Gavernet</i>	

Capítulo 7

Profármacos _____ 112

María L. Villalba y Melisa E. Gantner

Capítulo 8

Evaluaciones preclínicas en el descubrimiento de fármacos _____ 123

Andrea V. Enrique

Los autores _____ 136

CAPÍTULO 3

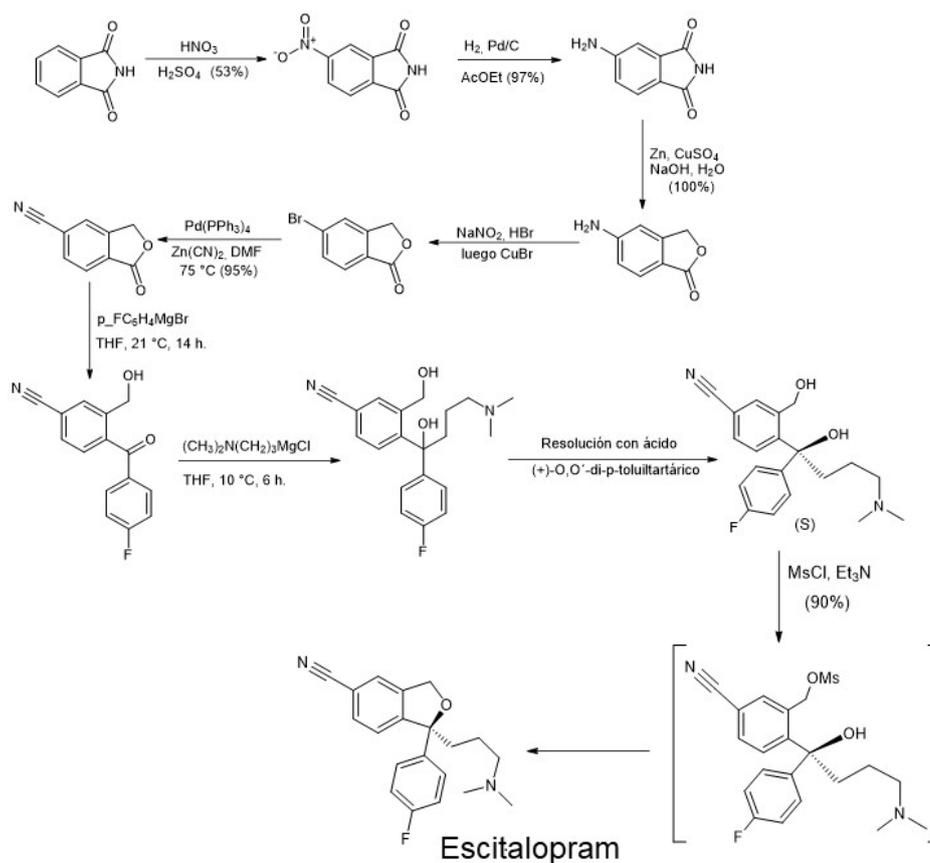
Síntesis de Fármacos

Laureano L. Sabatier, María L. Villalba y Luciana Gavernet

1. Rol de la síntesis química en el proceso de desarrollo de un fármaco

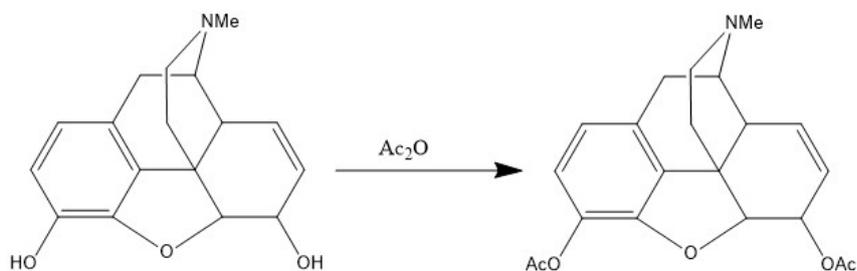
La mayoría de los fármacos son moléculas relativamente pequeñas que han sido pensadas y preparadas por químicos medicinales con experiencia en síntesis orgánica. Antes de comenzar una síntesis esta debe planificarse, es decir, plantear las rutas sintéticas que permitan la obtención de la molécula objetivo.

Denominaremos síntesis total a la síntesis química de un compuesto, a partir de precursores relativamente sencillos y disponibles comercialmente. Las materias primas en este tipo de síntesis habitualmente son compuestos derivados del petróleo de estructura simple. Por ejemplo, el Citalopram es un inhibidor selectivo de la recaptación de serotonina empleado para el tratamiento de la depresión, ataques de pánico, fobia social, etc. El enantiómero S del racemato Citalopram se denomina Escitalopram, y actualmente ambos fármacos están disponibles comercialmente. En el esquema 3.1 se representa la síntesis total del Escitalopram, en donde se puede apreciar que el material de partida es la ftalimida, un compuesto orgánico sencillo y asequible.



Esquema 3.1: Síntesis de Escitalopram.

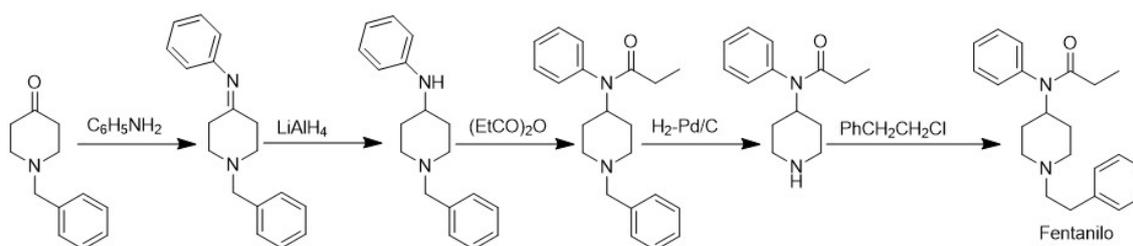
En una síntesis parcial o semisíntesis, se parte de un producto natural que no ha sido previamente sintetizado, sino extraído y purificado de organismos por métodos de separación de mezclas. Esteroides y antibióticos β -lactámicos son casos de compuestos activos que se obtienen por semisíntesis. Otro ejemplo es la Heroína, un opioide con propiedades analgésicas y habitualmente empleando como droga recreativa. Tal como se puede apreciar en el esquema 3.2, su síntesis consiste simplemente de la acetilación de la morfina (un producto natural extraído de *Papaver somniferum*).



Esquema 3.2: Semisíntesis de Heroína.

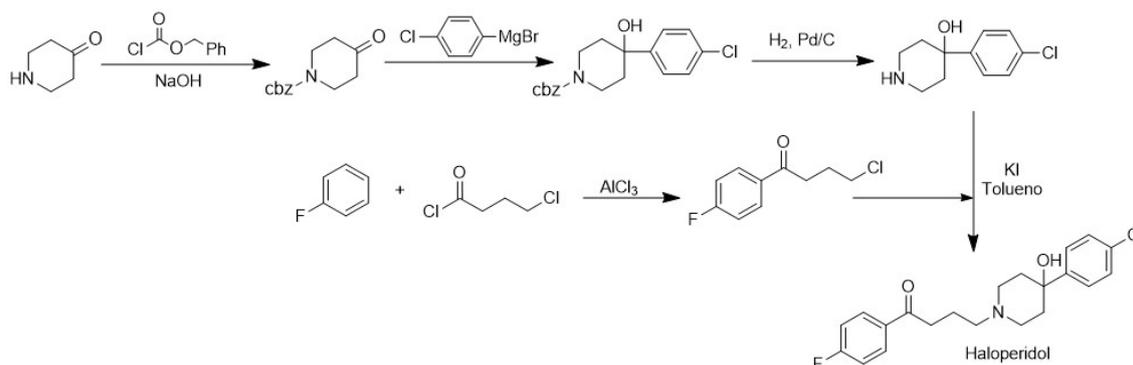
2. Síntesis lineal y convergente

Cuando el objetivo de la síntesis es obtener un compuesto estructuralmente sencillo, se suele emplear una serie de pasos que son llevados a cabo uno tras otro hasta obtener el producto deseado. Este tipo de síntesis en donde el compuesto objetivo es el resultado de una serie de transformaciones lineales, se lo denomina síntesis lineal; y a los compuestos químicos producidos en cada etapa se les denomina intermedios sintéticos. Por ejemplo, la síntesis del Fentanilo (Agonista opiode) es de tipo lineal (Esquema 3.3).



Esquema 3.3: Síntesis lineal de Fentanilo.

Para moléculas más complejas, una síntesis convergente es con frecuencia preferible. En este caso se sintetizan dos o más fragmentos separadamente que luego al unirse generan el compuesto deseado. Las síntesis convergentes presentan las ventajas de ser más cortas, fáciles de llevar a cabo y generan rendimientos globales más elevados. Un ejemplo es la síntesis de Haloperidol (un antipsicótico convencional) que se representa en el esquema 3.4.



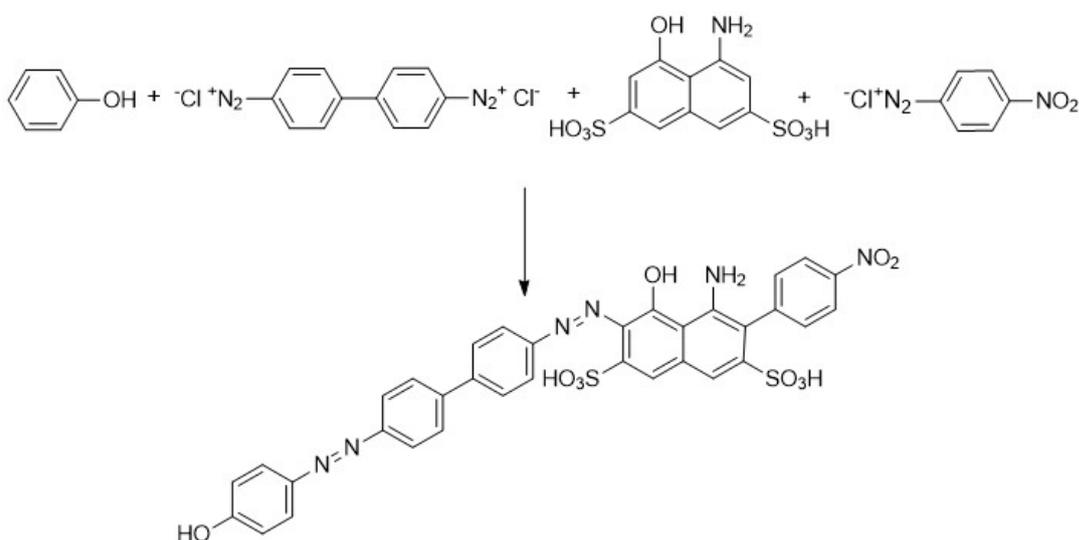
Esquema 3.4. Síntesis convergente de Haloperidol.

Debe mencionarse también que, además del rendimiento, resulta importante medir la pureza de los compuestos sintetizados. Definiremos como *sustancia pura* a aquella que, sometida a distintos procesos de purificación, mantiene sus propiedades fisicoquímicas invariantes. Además, en el caso de un fármaco es particularmente relevante el estudio de la identidad de las

impurezas: no es lo mismo decir que un compuesto tiene un 5 % de agua como impureza que un 5% de cianuro, sales, solventes residuales, etc.

3. Planificación de Síntesis

En relación con la planificación de una síntesis química, estas metodologías han cambiado en el tiempo y se han optimizado con el desarrollo de la química. Una estrategia es la *asociación directa*, utilizada a en siglo XIX y a principios del siglo XX para la preparación de moléculas objetivo. Consiste en reconocer dentro de la estructura un número de subestructuras o unidades accesibles, las cuales se unen usando reacciones conocidas y preferentemente en un solo paso. Un ejemplo es la síntesis de colorantes azoicos del Esquema 3.5.

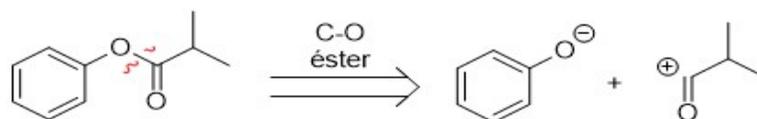


Esquema 3.5: Síntesis de colorantes azoicos mediante asociación directa.

Otra estrategia más general y muy utilizada se denomina *análisis retrosintético*, diseñada por Corey en la década del 60. Esta metodología permite postular en forma teórica diferentes rutas sintéticas para la molécula objetivo, mediante la desconexión de sus enlaces. La condición para que esta desconexión sea útil es que exista una reacción química capaz de reconectar los fragmentos generados. Además, deben priorizarse fragmentos relativamente estables y lograr la mayor simplificación posible de las reacciones.

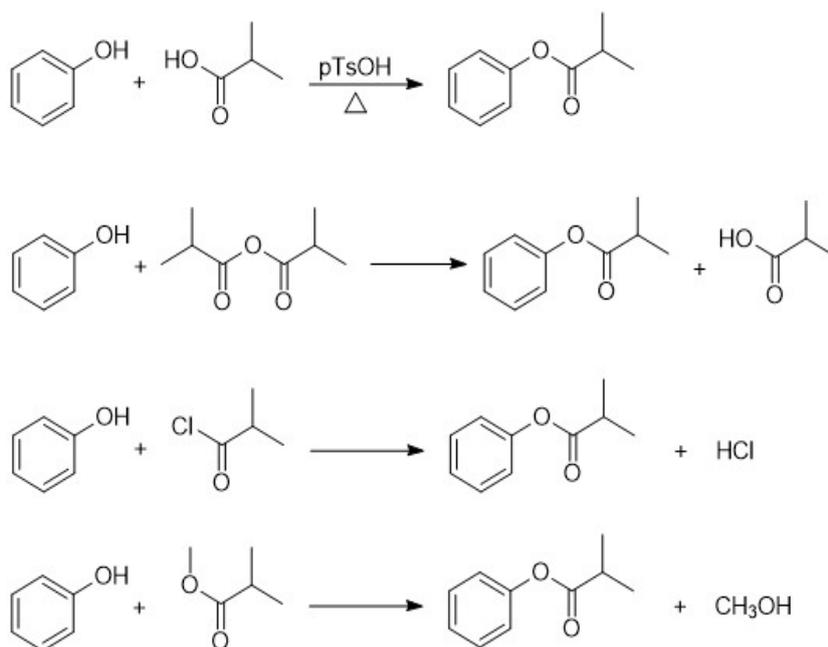
Se definen como *sintones* a aquellos fragmentos estructurales (usualmente de carácter teórico) que son producto de una desconexión. Por otra parte, aquel compuesto orgánico (o reactivo) de existencia real que se utiliza en la práctica como fuente de generación del sintón se denomina *equivalente sintético*. Dentro de las reacciones de síntesis más comunes están las del tipo polar, las cuales pueden ser analizadas mediante una ruptura heterolítica teórica que genera un sintón que posee un átomo polarizado negativamente (un donador de electrones) y otro que

posee un átomo polarizado positivamente (un aceptor de electrones). Por ejemplo, en la síntesis de un éster (Esquema 3.6) se puede desconectar el enlace C-O para generar un sintón catiónico y un aniónico. Nótese que las retrosíntesis se representan con una flecha de doble trazo pues son reacciones antitéticas, de modo de diferenciarlas de las reacciones opuestas, las sintéticas, que utilizan flechas de un solo trazo.



Esquema 3.6: Posible desconexión de enlace de un éster para la generación de sintones.

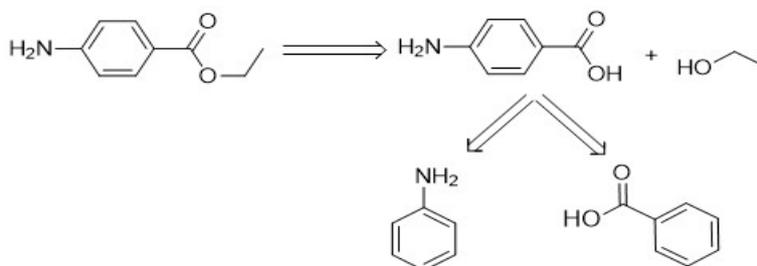
El paso siguiente es la propuesta de equivalentes sintéticos. En el caso del ejemplo existen varias estrategias sintéticas como por ejemplo la reacción de fenol con el ácido, o con el anhídrido, o el cloruro de ácido o el éster correspondiente (entre otras reacciones). Es decir, que un sintón puede tener asociado más de un equivalente sintético (Esquema 3.7).



Esquema 3.7: Posibles equivalentes sintéticos para la síntesis de un éster.

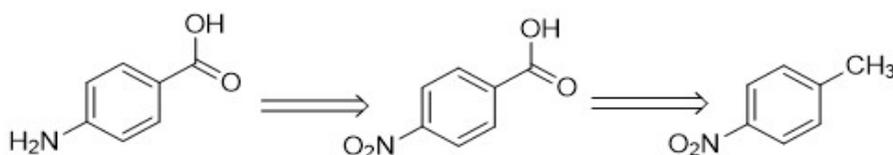
En el caso de la Benzocaína (un anestésico local) el análisis retrosintético puede plantear como etapa inicial también la ruptura de la unión éster (Esquema 3.8). Como equivalentes sintéticos podemos elegir, por ejemplo, el ácido p-aminobenzoico y el etanol como se vio en el ejemplo anterior. Posteriormente puede proponerse la desconexión de los grupos funcionales de dicho ácido, sin embargo, no existirá un equivalente sintético que mediante una reacción simple lo

regenera, ya sea desde la anilina o desde el ácido benzoico. Debe recurrirse entonces a una estrategia llamada interconversión del grupo funcional mediante la introducción de funciones latentes, esto es, grupos que están presentes en los equivalentes sintéticos pero que no son parte de la molécula objetivo.



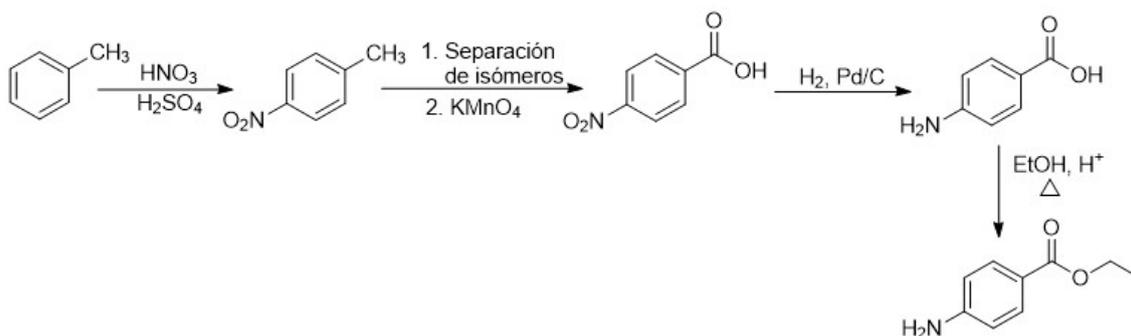
Esquema 3.8: Análisis retrosintético de Benzocaína.

La función amina se puede generar a partir del grupo nitro mediante reacciones de reducción conocidas, por lo que este último grupo puede considerarse como función latente. Similarmente, el grupo carboxilo puede generarse a partir de la oxidación de un grupo metilo unido a un anillo aromático mediante la reacción de oxidación de cadena lateral (Esquema 3.9). Estas funciones latentes tienen la ventaja de poder introducirse al anillo de benceno fácilmente mediante reacciones de sustitución electrofílica aromática (nitración en medio ácido o alquilación de Friedel-Crafts, respectivamente).



Esquema 3.9: Planteo retrosintético mediante el uso de funciones latentes.

La siguiente etapa sería la desconexión del p-nitrotolueno a tolueno. Este último es un reactivo accesible y posee un grupo metilo dador de electrones (y orientador en las posiciones orto y para preferentemente), por lo que resulta más conveniente que la desconexión a nitrobenceno. Por lo tanto, la propuesta de síntesis de Benzocaína se muestra en el Esquema 3.10.



Esquema 3.10: Propuesta de síntesis de Benzocaína de acuerdo con el análisis retrosintético.

4. Síntesis de fármacos utilizando química combinatoria

Como se ha mencionado previamente, el proceso de descubrimiento de fármacos es costoso tanto en términos de tiempo como de dinero invertido. Sin embargo, han ocurrido avances como la automatización y miniaturización de ensayos biológicos que han producido importantes ventajas por cuanto es posible hacer un cribado mediante métodos de alta eficiencia (en inglés, *High Throughput Screening*) de una gran cantidad de compuestos en forma simultánea. En este contexto, la etapa limitante para el estudio de la actividad biológica es la capacidad de sintetizar nuevas moléculas.

La *química combinatoria* es un conjunto de procedimientos que posibilitan la generación eficiente, simultánea y rápida de una gran cantidad de estructuras. Estas sustancias diferentes se denominan colectivamente *bibliotecas de compuestos o quimiotecas*. A diferencia de la síntesis clásica, que busca obtener un solo compuesto bien caracterizado e identificado, con estas metodologías se espera preparar grandes quimiotecas que posteriormente puedan ser sometidas a ensayos biológicos. Por lo tanto, la química combinatoria resulta útil como fuente de nuevos compuestos líderes y también como herramienta para la preparación de varios miembros de una misma familia estructural para la optimización de fármacos.

La estrategia utilizada por la química combinatoria es tomar un conjunto de compuestos diferentes, pero químicamente relacionados entre sí, para que reaccionen con otro grupo de estructuras (también relacionadas entre ellas), generando bajo las mismas condiciones de reacción todos los productos posibles surgidos de la combinación de ambos grupos constructores (Figura 3.1).

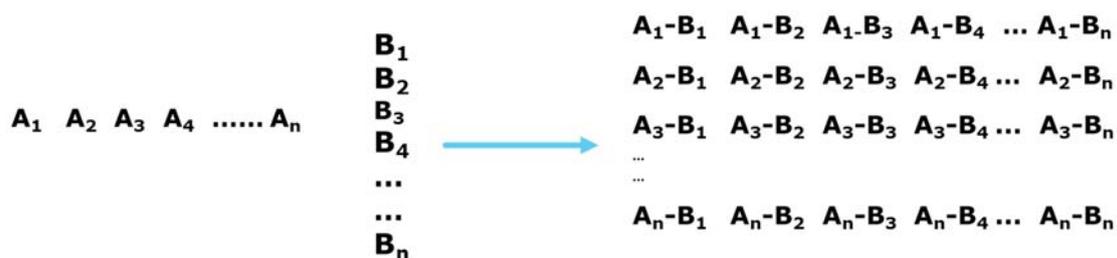
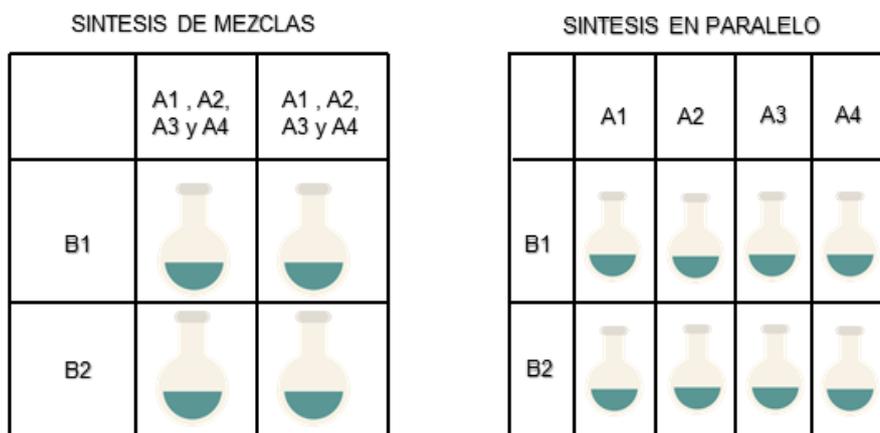


Figura 3.1: Representación de la estrategia de síntesis mediante química combinatoria.

La simultaneidad de las reacciones puede darse de dos maneras: mediante la síntesis de mezclas o por síntesis en paralelo (Figura 3.2). En el primer caso se obtienen distintos productos dentro de la misma mezcla de reacción, mientras que en el segundo caso cada compuesto se prepara en forma separada en un recipiente. En ambos casos se recurre a la síntesis en fase sólida como metodología de síntesis, dado que tiene como ventajas facilitar el proceso de automatización, y simplificar las etapas de aislamiento y purificación de los productos (las cuales usualmente representan un proceso largo y laborioso).

Figura 3.2; Representación de síntesis de mezclas y en paralelo. En el primer caso en cada recipiente se mezcla un reactivo B_i y varios A_i mientras que en el segundo se combina un reactivo B_i con solo uno del tipo A_i .

4.1 Síntesis en fase sólida

En la síntesis de fase sólida uno de los reactivos se une a un soporte sólido polimérico e insoluble en el solvente de reacción (denominado resina). Luego este compuesto “anclado” se hace reaccionar con el resto de los reactivos, quedando el producto final unido a la resina. Posteriormente un simple proceso de filtración elimina todo lo que se encuentra en solución (Figura 3.3). Esto permite por ejemplo trabajar con reactivos en exceso dado que aquellos

materiales que no reaccionan serán parte del filtrado en el proceso de aislamiento. La etapa final es la separación (o desacople) del producto deseado de la resina mediante el uso de algún reactivo adecuado. Este producto puede ser sometido posteriormente a procesos de purificación tradicional de ser necesario.

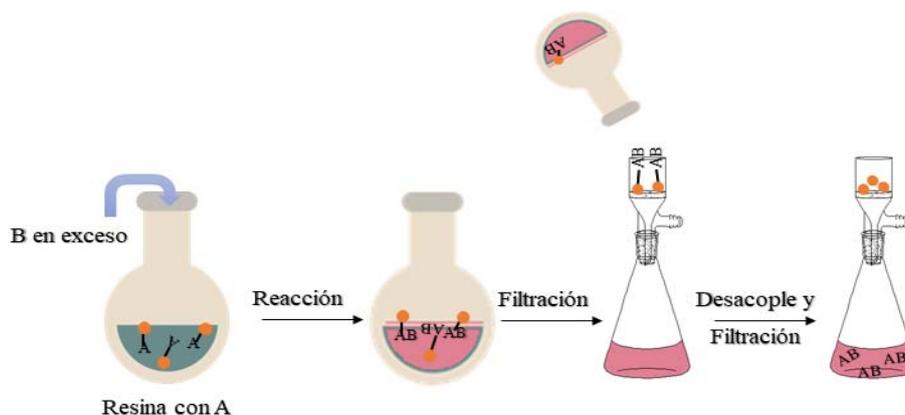


Figura 3.3: Esquema de síntesis en fase sólida. La resina se representa como una esfera naranja.

El empleo de este tipo de reacciones está basado en el desarrollo de la síntesis de péptidos de Merrifield en 1963 (Figura 3.4). Inicialmente el soporte sólido inerte está unido covalentemente a un grupo ligante, esto es, a una estructura que mediante una reacción química permita la unión del primer reactivo a la resina. En el caso de la síntesis de Merrifield los bloques constructores del producto final serán aminoácidos, por lo que estos reactivos presentan diferentes grupos funcionales (amino, ácidos carboxílicos, alcoholes, etc.). Por lo tanto, aquellas funciones que no deben reaccionar con el sistema ligante-resina deben encontrarse protegidas al momento de realizar el acoplamiento. Una vez realizado el acoplamiento inicial por medio del grupo ácido del aminoácido, se eliminarán por filtración el exceso de reactivos que no se han unido a la resina. Para eliminar residuos adsorbidos u ocluidos en la resina también se realizan lavados luego de la filtración. Habiendo inmobilizado el primer aminoácido se produce el crecimiento del péptido: se realiza la reacción de remoción del grupo protector del grupo amino para permitir la reacción con el siguiente aminoácido protegido. Ahora se tiene un dipéptido anclado a la resina que se aísla de los reactivos en exceso por filtración y lavado. Luego de ciclos repetitivos de acoplamiento-lavado-desprotección-lavado se obtiene el producto deseado, el cual se libera del soporte sólido, usualmente con un reactivo que permita remover también otros grupos protectores existentes en el péptido.

Del análisis de este ejemplo podemos concluir que para la síntesis en fase sólida es necesaria la presencia de un soporte polimérico inerte, entrecruzado e insoluble; un ligante capaz de conectar a dicho soporte el bloque constructor de la molécula objetivo y un conjunto de reacciones químicas que permitan la preparación del producto final, incluyendo reacciones de protección y desprotección de grupos reactivos.

En relación con el soporte insoluble, estos tienen la función de facilitar el aislamiento de los productos mediante separación por filtración. Sin embargo, los solventes penetran dentro de la resina en distintas proporciones expandiendo su volumen (fenómeno conocido como hinchado de la resina). Las resinas más usadas son granos de poliestireno entrecruzado con divinilbenceno, las cuales presentan características hidrofóbicas. En los anillos aromáticos de poliestireno se ubican, en ciertos intervalos, los grupos ligantes. Estos grupos deben formar enlaces estables con los reactivos utilizados para anclar los bloques constructores, pero deben ser capaces de escindirse cuando la reacción se completa para liberar el producto final. Dado que los grupos ligantes se encuentran distribuidos en toda la cadena polimérica del soporte, resulta importante también la selección de un solvente que pueda hinchar lo suficiente la resina para permitir la llegada de los grupos ligantes ubicados en el interior del polímero. Las resinas de poliestireno/divinilbenceno se hinchan apropiadamente con solventes apolares, pero su hinchamiento es pobre en solventes polares próticos.

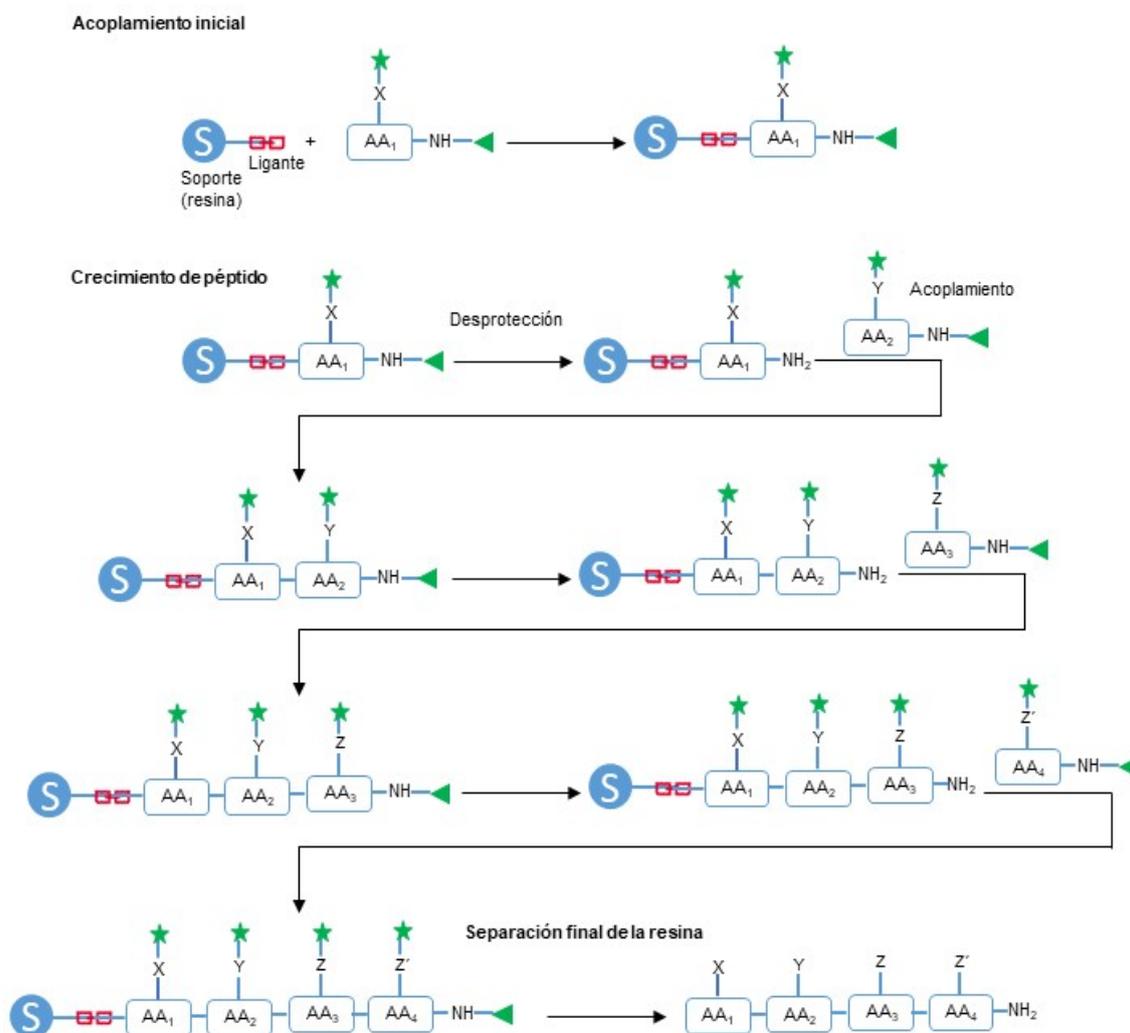


Figura 3.4: Representación de la síntesis en fase sólida de péptidos. Los grupos protectores se representan con formas de color verde.

En la Figura 3.5 se muestran las estructuras de algunos grupos ligantes utilizados frecuentemente en la síntesis de fase sólida. La resina de Merrifield es simplemente una derivatización de la cadena polimérica con el grupo clorometilo. Alternativas a esta fase sólida son la resina de Wang y la de Sasrin, las cuales poseen al menos un grupo alcoxi (dador de electrones) en el anillo aromático, lo que las hace más lábiles a ácidos que la resina de Merrifield. Por el contrario, la resina PAM es más resistente a ácidos ya que posee un ligante con un grupo atractor de electrones. Otros ligantes como las resinas de Rink amida, permiten la preparación de amidas primarias y las resinas dihidropirano presentan alternativas de anclaje, ya que en vez de grupos ácidos pueden incorporarse en este caso grupos alcoholes por adición al doble enlace. Finalmente pueden mencionarse las resinas fotolábiles, las cuales permiten el desacople del producto final por irradiación con luz ultravioleta.

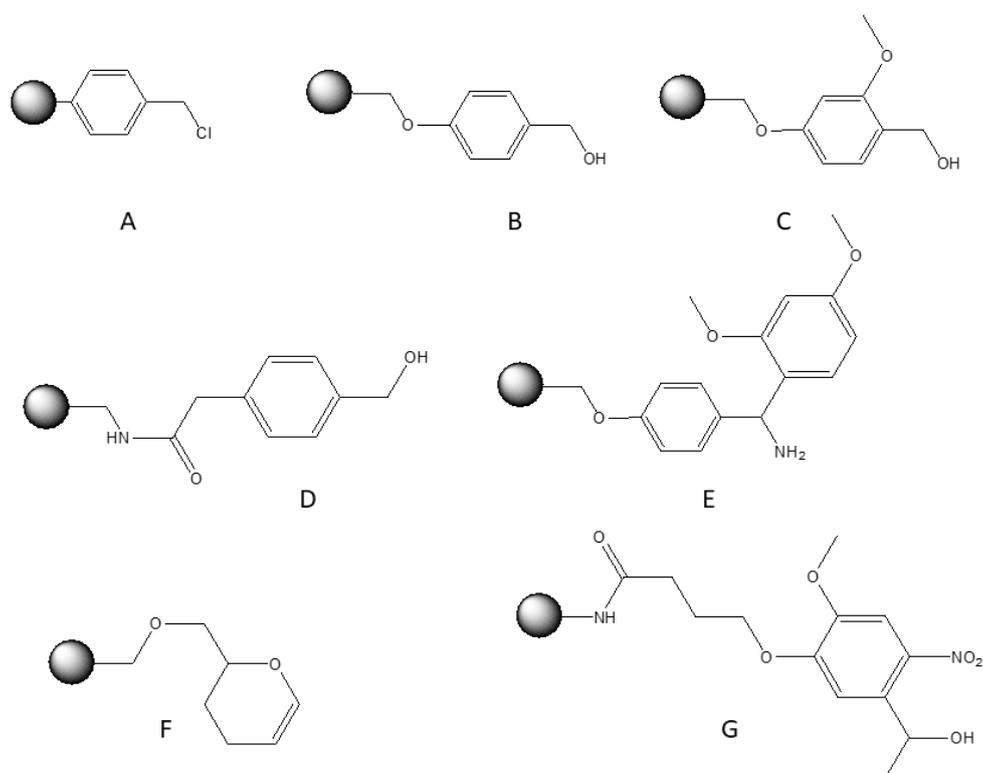
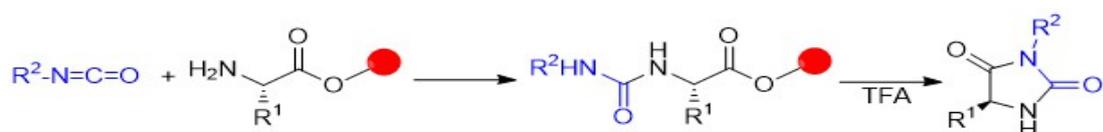


Figura 3.5. Estructura de grupos ligantes unidos a resinas utilizadas en síntesis en fase sólida. A: resina de Merrifield; B: resina de Wang; C: resina de Sasrin; D: resina PAM, E: resina de Rink; F: resina de dihidropirano; G: resina fotolábil.

La síntesis en fase sólida representa una metodología con ciertas ventajas respecto de la síntesis tradicional en solución. Principalmente la presencia de un soporte sólido permite el trabajo con reactivos en exceso sin generar problemas en la etapa de aislamiento, dado que estos compuestos, junto con otros subproductos solubles, son fácilmente removidos. En este mismo sentido resulta muy útil para realizar reacciones en más de una etapa, ya que los productos de las reacciones intermedias no necesitan purificarse. En cuanto a las condiciones de reacción, se admiten solventes de alto punto

de ebullición, que luego no deben evaporarse en el aislamiento como en la síntesis tradicional. Además, puede trabajarse con una mayor seguridad con sustancias tóxicas ya que al estar unidas al soporte sólido son fácilmente manipulables.

Por otra parte, las resinas pueden ser regeneradas y reutilizarse; y en general las reacciones son más amigables con el medio ambiente ya que prescinden de solventes y otros materiales que usualmente se utilizan en las etapas de aislamiento en la síntesis tradicional. Adicionalmente mediante este tipo de soportes se facilitan reacciones químicas que resultan dificultosas en la síntesis tradicional. Por ejemplo, se favorecen las reacciones intramoleculares (como las ciclaciones) debido a las condiciones de pseudodilución cercanas a los sitios de reactivos de la resina (Esquema 3.11).



Esquema 3.11. Síntesis de hidantoínas en fase sólida. Las esferas rojas representan el soporte sólido.

Además, la síntesis en fase sólida puede automatizarse para la generación de bibliotecas combinatorias ya sea mediante técnicas de síntesis de mezclas o en paralelo.

4.2 Bibliotecas de compuestos en mezclas

Dentro de los métodos de preparación de bibliotecas en mezclas, el más utilizado es la estrategia de mezclar y separar, desarrollado por Furka en 1988. Esta metodología se ejemplifica con la síntesis de tripéptidos que contienen leucina (Leu), alanina (Ala) y/o valina (Val) como bloques constructores (Figura 3.6). Inicialmente los granos de resina se dividen en partes iguales y se los someten a la reacción con el primer aminoácido, el cual es diferente en cada caso. Luego de que la reacción se completa se filtran, lavan y mezclan las resinas para finalmente dividir las en 3 fracciones. Estas porciones contienen a los aminoácidos unidos a las resinas, pero no hay resina que contenga más de un tipo de aminoácido acoplado, dado que los reactivos se agregaron puros. Luego estos 3 grupos reaccionan nuevamente con los 3 aminoácidos en forma separada, obteniéndose ahora dipéptidos. Nuevamente se filtran, lavan y mezclan, para generar un conjunto de 9 dipéptidos unidos a las resinas.

El proceso puede repetirse las veces necesarias, dependiendo de la longitud del péptido deseado. En el caso del ejemplo, se obtienen 3 mezclas que en total generan 27 tripéptidos. Una vez sintetizadas las mezclas se procede a la evaluación biológica. Usualmente el testeo biológico implica la liberación de los compuestos de la fase sólida, aunque existen algunos ensayos que son compatibles con los compuestos unidos a la resina. Conocida la mezcla más activa debe determinarse cuál de las estructuras que la componen es la mayor responsable de la actividad. Este proceso se conoce con el nombre de *deconvolución de mezclas*.

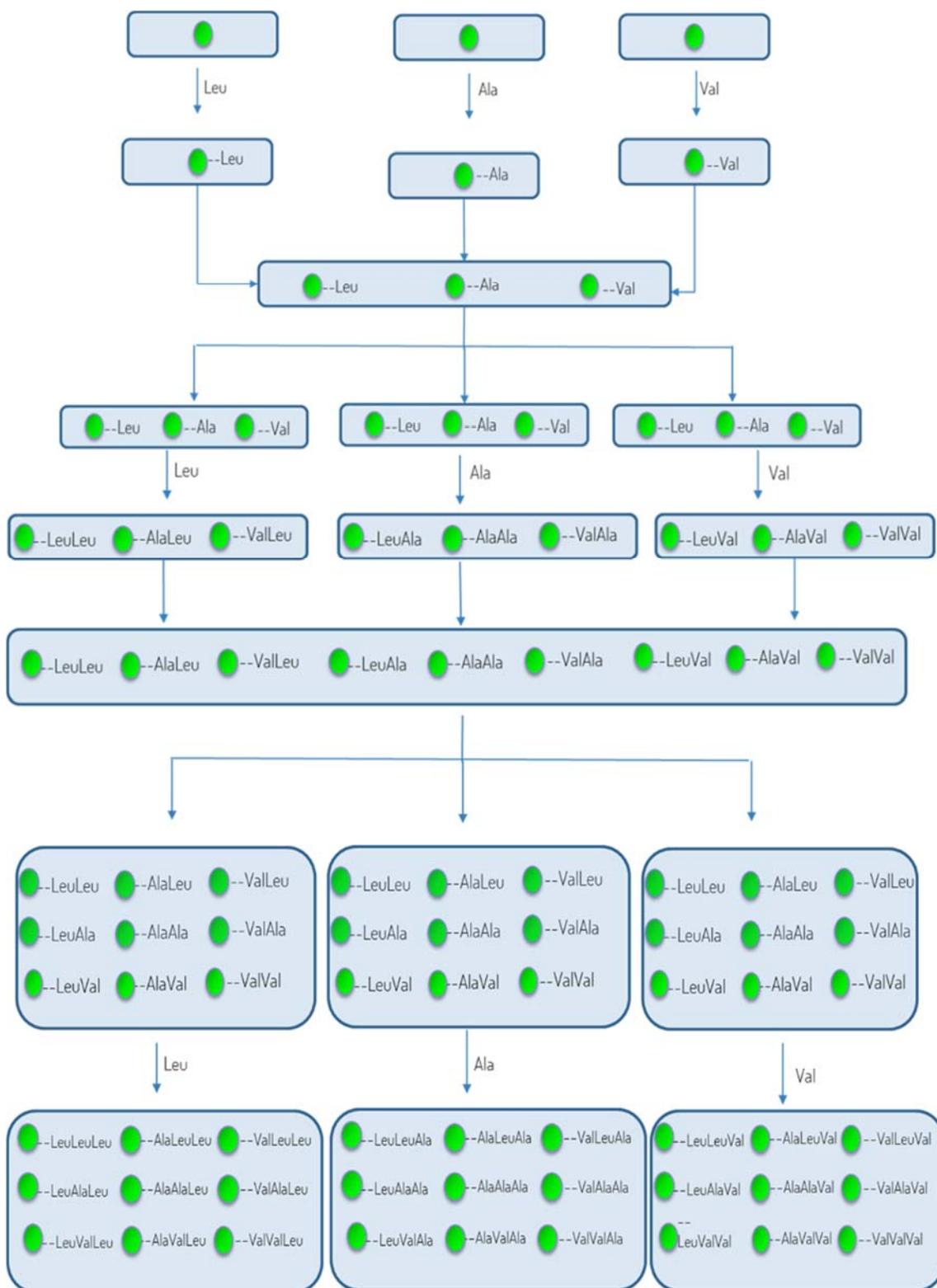


Figura 3.6: Estrategia de mezclar y separar para el desarrollo de síntesis combinatoria en mezclas.

En el caso del ejemplo, supongamos que la segunda mezcla es la más activa (Figura 3.7). Dado que se conoce el último reactivo agregado, se sabe la identidad del último aminoácido del péptido más activo, en nuestro caso Ala. Entonces se hace la primera resíntesis: se toman las

mezclas de dipéptidos (reservadas de la etapa anterior) y a todas se le agregan Ala. Se obtienen mezclas de tripéptidos que tienen Ala en la última posición y se ensayan. Según el ejemplo de la figura 3.7 la mezcla más activa es la primera, la cual, de acuerdo a la ruta sintética (Figura 3.6), tiene Leu como segundo aminoácido. Entonces se hace una nueva resíntesis que será ya de los aminoácidos unidos a la resina, y si el recipiente más activo es al primero puede deducirse que el candidato activo tiene estructura Leu-Leu-Ala.

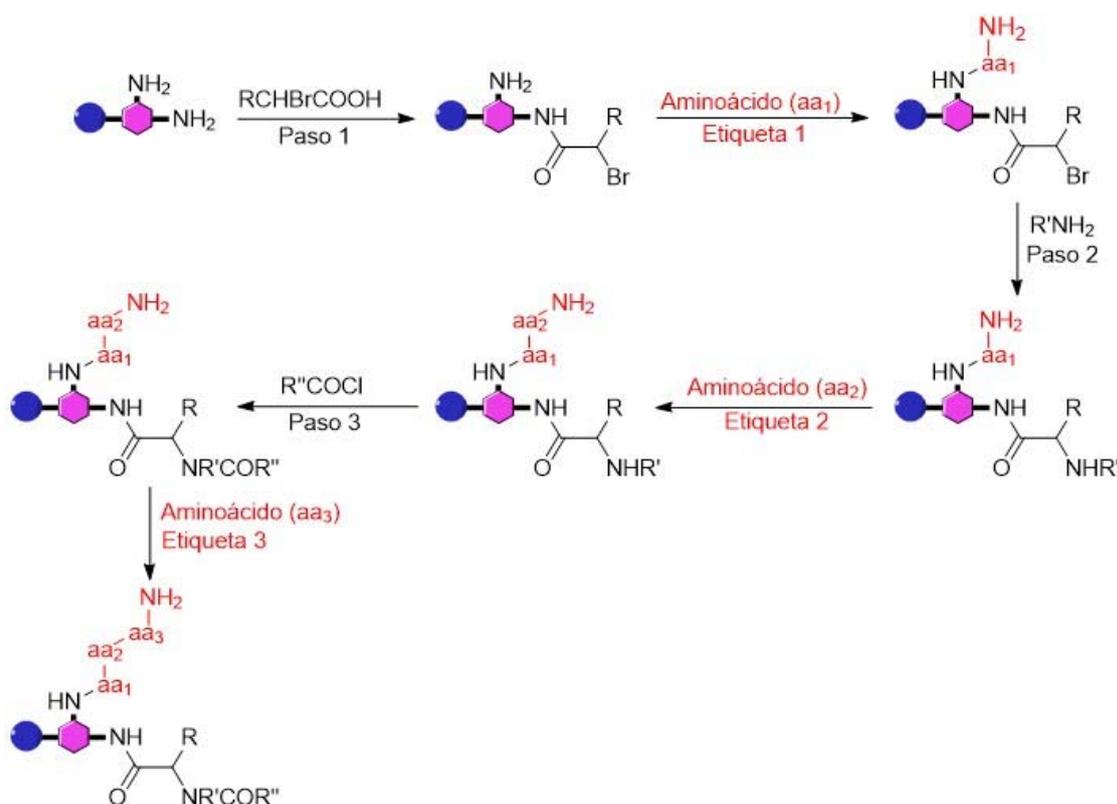


Figura 3.7: Proceso de deconvolución en la técnica de mezclar y separar. Las mezclas más activas se marcan en color rosa.

El método de mezclar y separar es útil para la preparación de gran cantidad de compuestos por combinación de sus bloques constructores, y posee una manera simple de identificar los compuestos activos por deconvolución. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que es posible que las reacciones no generen los productos esperados, por lo que erróneamente puede concluirse que un compuesto es inactivo cuando en realidad este no se encuentra presente en la mezcla. Adicionalmente, es posible que un compuesto activo se enmascare en una mezcla formada mayoritariamente por compuestos poco activos, por lo que la medida de la actividad en promedio medida será baja y se descarte.

El método de mezclar y separar resulta útil en la preparación de bibliotecas de moléculas secuenciables (por ejemplo: péptidos de aminoácidos naturales), ya que las estructuras activas pueden finalmente identificarse aun teniendo muy poca cantidad de muestra. Para la síntesis de otras estructuras es necesaria la introducción de métodos de codificación, los cuales permitirán

la identificación del compuesto activo aún en pequeñas cantidades. Para ello pueden incluirse etiquetas en el mismo grano de la resina donde se realiza la síntesis de la molécula objetivo. En estos casos el proceso involucra la construcción simultánea de dos compuestos, por lo que la resina debe contener un grupo ligante con más de un sitio reactivo. Uno de ellos es la estructura objetivo y el otro es una etiqueta (usualmente un péptido u oligonucleótido) que permitirá deducir la composición de la molécula objetivo. En el esquema 3.12 se muestra un ejemplo que ilustra la síntesis de un compuesto que tiene 3 bloques constructores, por lo que al final de la reacción la etiqueta será un tripéptido cuya identidad definirá a los sustituyentes R, R' y R'' de la molécula objetivo. Luego de la síntesis la estructura no peptídica se puede separar selectivamente de la resina con los reactivos adecuados, dejando unida la etiqueta peptídica a la resina, la cual puede ser secuenciada para la identificación del producto liberado. Del mismo modo puede usarse un oligonucleótido como etiqueta, el cual puede amplificarse mediante alguna técnica adecuada.



Esquema 3.12: Síntesis de bibliotecas con identificación por etiquetas moleculares.

4.3 Bibliotecas de compuestos en paralelo

Como se mencionó anteriormente, las técnicas de síntesis en paralelo implican reacciones simultáneas en recipientes de reacción separados. Como ejemplo se mencionará el sistema Multipin, un método manual desarrollado por Geysen en 1984 (Figura 3.8). Consiste en un dispositivo

formado por varillas de polietileno insertadas sobre una placa, en cuyo extremo libre se encuentran inmobilizadas las resinas de poliestireno-divinilbenceno funcionalizadas con un grupo que actúa de espaciador y que posee una función amino libre capaz de generar reacciones de acoplamiento. Los reactivos se colocan en reservorios cuyo espaciado coincide con el de las varillas. En el caso de la síntesis de péptidos, por ejemplo, en los reservorios se ubican aminoácidos protegidos y se sumergen las varillas de modo de generar el primer acoplamiento a la resina. Luego se lavan las varillas y se realiza la remoción de los grupos protectores, para posteriormente repetir el proceso colocando otros aminoácidos protegidos en los reservorios. La etapa final consiste en la liberación del péptido, la cual puede realizarse en los mismos reservorios que sirven como recipientes adecuados para los ensayos biológicos.

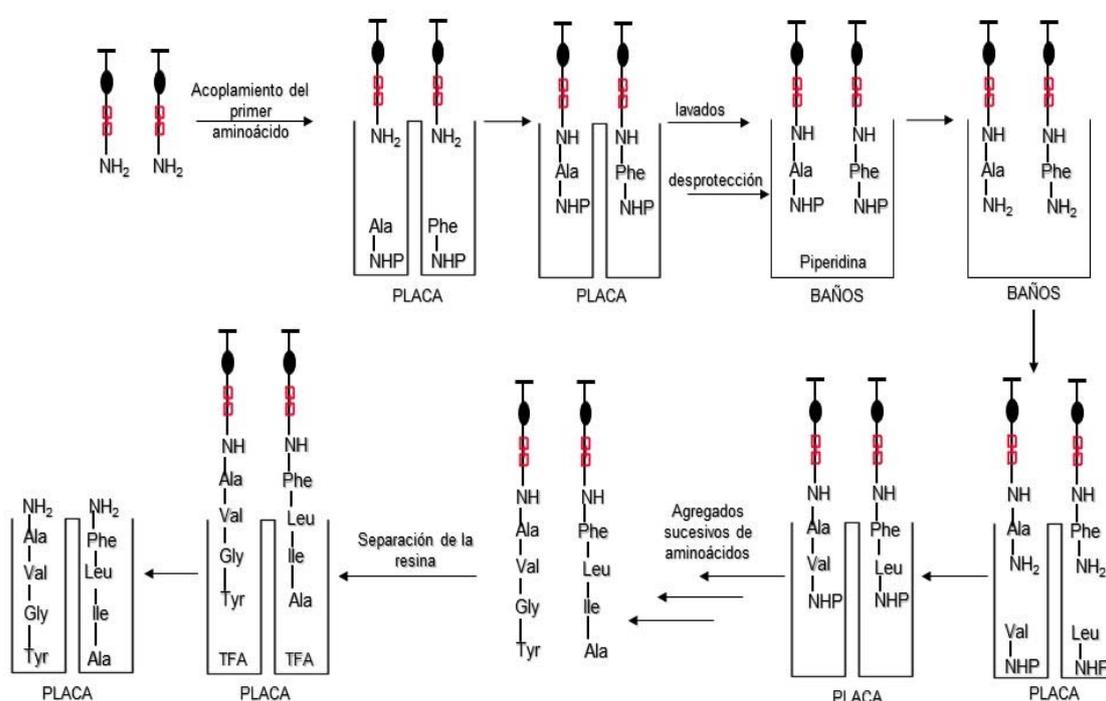


Figura 3.8: Representación de la síntesis en paralelo por el sistema Multipin. El grupo espaciador se simboliza en rojo. Las siglas NHP representan un grupo amino protegido como extremo del aminoácido.

Una alternativa a este dispositivo es el Diversomero®, desarrollado por Parke-Davis. A diferencia del sistema Multipin, donde la resina se une a una varilla por su parte exterior, en este caso la resina se encuentra en el interior de varillas huecas pero permeables al medio de reacción mediante un cierre de vidrio poroso. Esto permite adaptar una cámara para la refrigeración de las varillas en su parte superior, posibilitando reacciones a reflujo. Además, es posible sellarlas, permitiendo generar atmósfera inerte en los medios de reacción.

4.4 Diseño de quimiotecas.

Los primeros desarrollos en química combinatoria se han centrado en la síntesis de péptidos y nucleótidos, ya que son estructuras que pueden ser preparadas en fase sólida en forma automatizada mediante la repetición de unos pocos pasos de síntesis. Posteriormente se avanzó hacia la generación de bibliotecas de compuestos más pequeños, los cuales posiblemente resultan mejores candidatos a fármacos que los péptidos debido a la poca absorción oral y estabilidad de estos últimos. La construcción de estas nuevas bibliotecas implicó un mayor desarrollo de la síntesis orgánica en fase sólida, dado que en estos casos debe recurrirse a otro tipo de reacciones para la generación de los productos finales.

Como resultado de la síntesis de una quimioteca se obtienen moléculas que comparten un esqueleto común (andamio o *scaffold*, en inglés) y que poseen diversos sustituyentes (Figura 3.9). Un *scaffold* ideal es aquel que posee un bajo peso molecular, ya que los productos finales tendrán sustituyentes que aumenten su tamaño. Además, resulta más conveniente que los sustituyentes se ubiquen en forma radial alrededor del esqueleto y no estén restringirlos a una pequeña región de la molécula. Finalmente se espera que un esqueleto contenga grupos funcionales que permitan reacciones de variación de sustituyentes en forma independiente para cada sitio reactivo. Ejemplos de esqueletos son los benzodiazepinas, las hidantoínas, los bifenílos, etc.

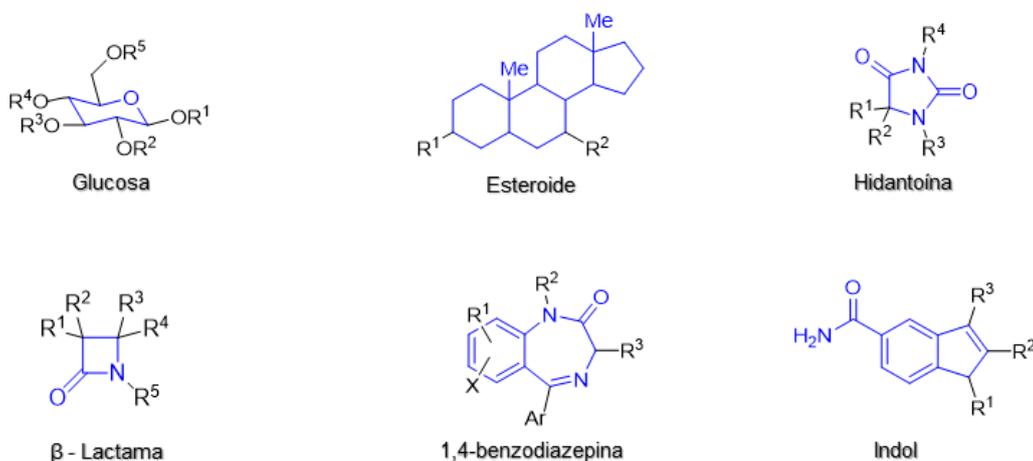


Figura 3.9: Estructura de scaffolds utilizados en la síntesis de quimiotecas.

5. Síntesis orgánica asistida por microondas

La técnica de síntesis asistida por microondas (MAOS) ha sido ampliamente reconocida como una importante herramienta alternativa para proporcionar energía térmica a una reacción, que presenta numerosas ventajas respecto del calentamiento térmico. Entre ellas se encuentran: el ahorro de tiempo y energía, la optimización de rendimientos, la obtención de productos en un

menor número de pasos y la generación de menos subproductos minimizando la contaminación. Además, en muchos casos se prescinde del uso de disolventes. Esta unión entre la ausencia de disolventes y las microondas, así como el tiempo requerido en las reacciones químicas alcanza un gran potencial en la síntesis orgánica y, sobre todo, en la síntesis de fármacos en forma automatizada y/o mediante técnicas de química combinatoria.

La radiación por microondas, como cualquier radiación electromagnética, está constituida por un campo eléctrico y un campo magnético (aunque sólo el campo eléctrico transfiere la energía que conduce al calentamiento de las sustancias). Están situadas en la región entre las ondas de radio y el infrarrojo con una longitud de onda comprendida entre 1cm y 1m que corresponde a frecuencias entre 30 GHz y 300 MHz. Debido a que los radares y otros sistemas de telecomunicaciones utilizan frecuencias ubicadas en la zona de microondas, para evitar interferencias existe una regulación a nivel nacional e internacional en la cual se utilizan bandas permitidas ISM (frecuencias industriales científicas y médicas), que para el uso de reactores microondas con fines químicos deben operar a una frecuencia de 2.45 GHz (longitud de onda de 12.25cm).

La energía generada por la radiación de microondas en la frecuencia de 2,45 GHz es relativamente baja ($1,6 \times 10^{-3}$ eV). Este nivel de energía es mucho más bajo que el nivel de energía de un enlace covalente o de hidrógeno (0.04 a 0.44 eV) lo que indica que la energía de microondas a esta frecuencia no puede romper estos enlaces. Por lo tanto, Las microondas no pueden inducir reacciones químicas por absorción directa de energía electromagnética a diferencia de la radiación ultravioleta y visible. Entonces *¿Cómo afecta la irradiación de microondas a una reacción química?* La respuesta está en el calentamiento eficiente (calentamiento dieléctrico) que generan las moléculas por transformar energía electromagnética en calor a través de dos mecanismos principales: polarización dipolar y conducción iónica.

5.1 Polarización dipolar y conducción iónica

Las moléculas con momento dipolar permanente o inducido, bajo la influencia de un campo eléctrico externo, tienden a alinear su momento dipolar con éste (Figura 3.9). Como el campo aplicado oscila, los dipolos tienden a alinearse al mismo. Así, se genera una diferencia de fase entre el dipolo y la orientación del campo. Esta diferencia de fase produce una pérdida de energía en forma de calor por fricciones, colisiones moleculares y por pérdidas dieléctricas, dando lugar al calentamiento dieléctrico por el mecanismo de rotación molecular. La cantidad de calor generada es directamente proporcional a la capacidad de los dipolos de alinearse con el campo aplicado. Es por esto que los gases no pueden calentarse mediante irradiación de microondas, debido a que las distancias entre las moléculas en rotación son demasiado grandes y no poseen, además, momentos dipolares adecuados para las pérdidas dieléctricas.

La segunda forma de transferencia de energía es la conducción iónica, que tiene lugar si hay iones libres o especies iónicas presentes en la sustancia. Según este mecanismo, el calor se genera a través de pérdidas por fricción, que resultan de la migración de iones disueltos cuando sobre ellos

actúa un campo electromagnético (Figura 3.9). Dichas pérdidas dependen del tamaño, carga, conductividad de los iones disueltos e interacción de estos últimos con el disolvente.

Los efectos de la conducción iónica son especialmente importantes cuando se trabaja con líquidos iónicos en microondas. En este caso, el mecanismo de conducción iónica es mucho más fuerte que el de rotación dipolar en cuanto a lo que a la generación de calor se refiere. Asimismo, el mecanismo de conducción iónica permite explicar el hecho de que algunos metales cuyo momento dipolar es nulo, se calientan efectivamente con microondas.

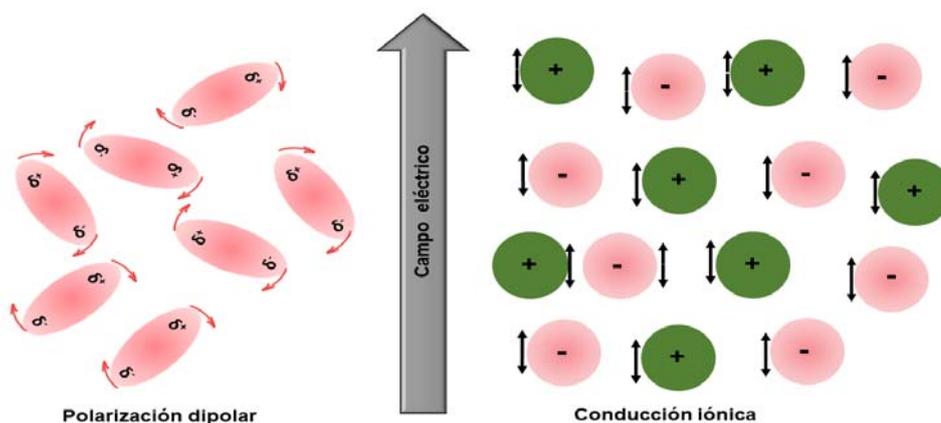


Figura 3.9: Ilustración esquemática de los mecanismos que generan calentamiento dieléctrico: Polarización dipolar (los dipolos se alinean con el campo eléctrico) y conducción iónica (los iones migran en dirección al campo eléctrico).

Los mecanismos de calentamiento mencionados anteriormente necesitan de que el acoplamiento entre las componentes del material irradiado y el campo eléctrico de las microondas sea efectivo. Ambos están influenciados por varios factores, entre ellos la longitud de onda de la radiación, las propiedades físicas de la sustancia (constante dieléctrica, polaridad, temperatura) y las características del ión (tamaño, concentración, carga y movilidad).

5.2 Propiedades dieléctricas

Para cuantificar la capacidad que tiene una sustancia de transformar la radiación de microondas en calor se utiliza el factor de disipación ($\tan \delta$) que indica la susceptibilidad a la radiación microondas. Este factor se define como el cociente entre la pérdida dieléctrica (ϵ''), que muestra la eficiencia con que la radiación electromagnética se transforma en calor, y la constante dieléctrica (ϵ') que describe la polarizabilidad de la molécula en un campo eléctrico (Ecuación 5.1).

$$\tan \delta: \epsilon'' / \epsilon'$$

Ecuación 5.1: Expresión matemática del factor de disipación.

Para llevar a cabo una síntesis cuando las propiedades dieléctricas de la mezcla de reacción son demasiado pobres para permitir un calentamiento eficiente por radiación de microondas, la adición de pequeñas cantidades de aditivos (por ejemplo, sales o líquidos iónicos) que tienen grandes valores de $\tan \delta$ pueden superar significativamente estos problemas y posibilitan un adecuado calentamiento de la mezcla. A su vez, es necesario determinar la necesidad del uso o no de disolvente. La posibilidad de no usar disolventes para las reacciones con microondas es una opción que en los últimos tiempos ha ido ganando adeptos siguiendo la filosofía de la *química verde*, permitiendo reacciones más respetuosas con el medio ambiente y reduciendo costos.

Para el caso en que sea indispensable el empleo de un disolvente, un factor crucial para su elección es su polaridad. Cuando los reactivos no absorben la radiación microondas, se ha de utilizar un disolvente polar (ya sea de polaridad intermedia o elevada). Cuanto mayor es la polaridad de un disolvente mayor es su capacidad para acoplarse con las microondas permitiendo un aumento más rápido de la temperatura interna. En la tabla 5.1 se puede observar una clasificación de disolventes orgánicos de uso habitual en función de su facilidad para acoplarse con las microondas.

Tabla 1. Solventes orgánicos de uso habitual clasificados según su eficiencia de calentamiento ($\tan \delta$), en microondas.

Elevado $\tan \delta > 0.5$		Medio $\tan \delta 0.1-0.5$		Bajo $\tan \delta < 0.1$	
Solvente	$\tan \delta$	Solvente	$\tan \delta$	Solvente	$\tan \delta$
Etilenglicol	1.320	2-butanol	0.447	Cloroformo	0.091
Etanol	0.941	Diclorobenceno	0.280	Acetonitrilo	0.062
DMSO	0.825	Ácido acético	0.174	Acetato de etilo	0.059
2-propanol	0.799	DMF	0.161	Acetona	0.054
Metanol	0.659	Dicloroetano	0.127	Diclorometano	0.042
nitrobenceno	0.589	Agua	0.123	Tolueno	0.040
1-Butanol	0.571	Clorobenceno	0.101	Hexano	0.020

El empleo de disolventes apolares (ejemplo: hexano, benceno, tolueno), que no se acoplan de manera efectiva con las microondas, evita una elevación excesiva de la temperatura del medio de reacción. Esta característica es interesante para trabajar con sustancias sensibles a temperaturas elevadas, ya que estos disolventes disipan el calor que se produce cuando las microondas interactúan con los reactivos polares. A continuación, se presentan algunos ejemplos que destacan las capacidades únicas y potenciales de la síntesis asistida por microondas en el campo de la química medicinal.

5.3 MAOS en el proceso de descubrimiento de fármacos

La síntesis asistida por microondas tiene influencia en varias etapas del descubrimiento de fármacos y no se limita solo a áreas relacionadas con la síntesis orgánica. Por ejemplo, la tecnología de microondas también se está utilizando en el descubrimiento de blancos moleculares. Los tiempos de reacción extremadamente cortos facilitados por MAOS permiten sintetizar compuestos de vida media corta que no se podrían obtener de otro modo utilizando métodos clásicos. Un ejemplo de esta aplicación es la preparación de radio fármacos que contienen isótopos con tiempo de vida media cortas (Figura 3.10; por ejemplo, ^{13}C , ^3H y ^{18}F). En estos ejemplos, esta técnica ha permitido con éxito reducir el tiempo de reacción, y aumentar el rendimiento del producto final (hasta duplicarlo en algunos casos).

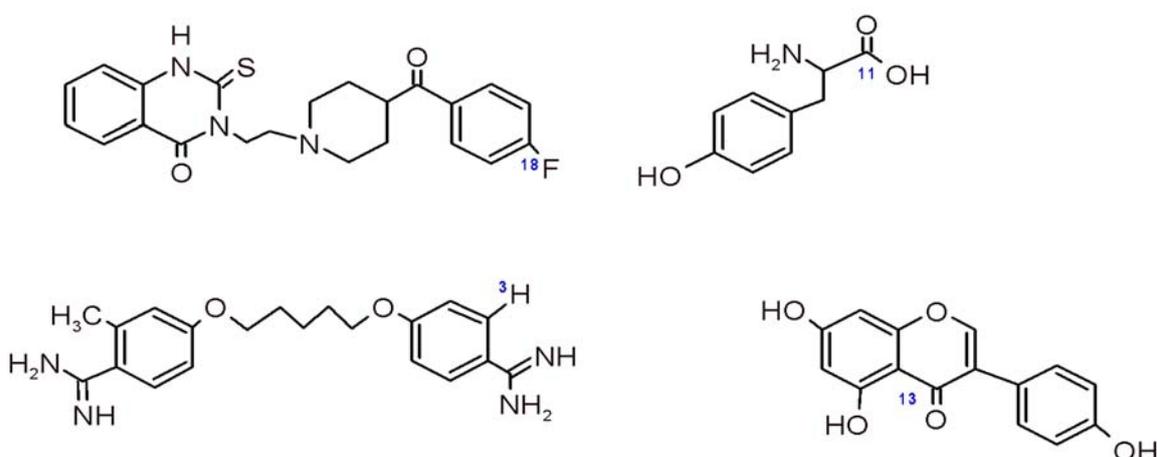
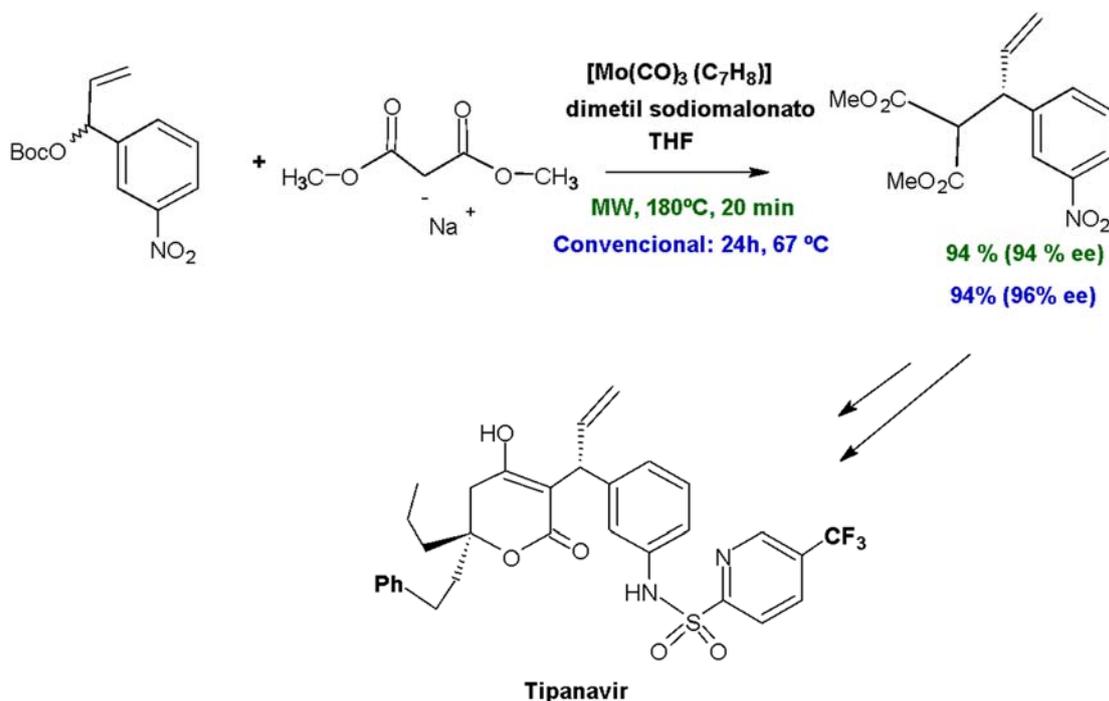


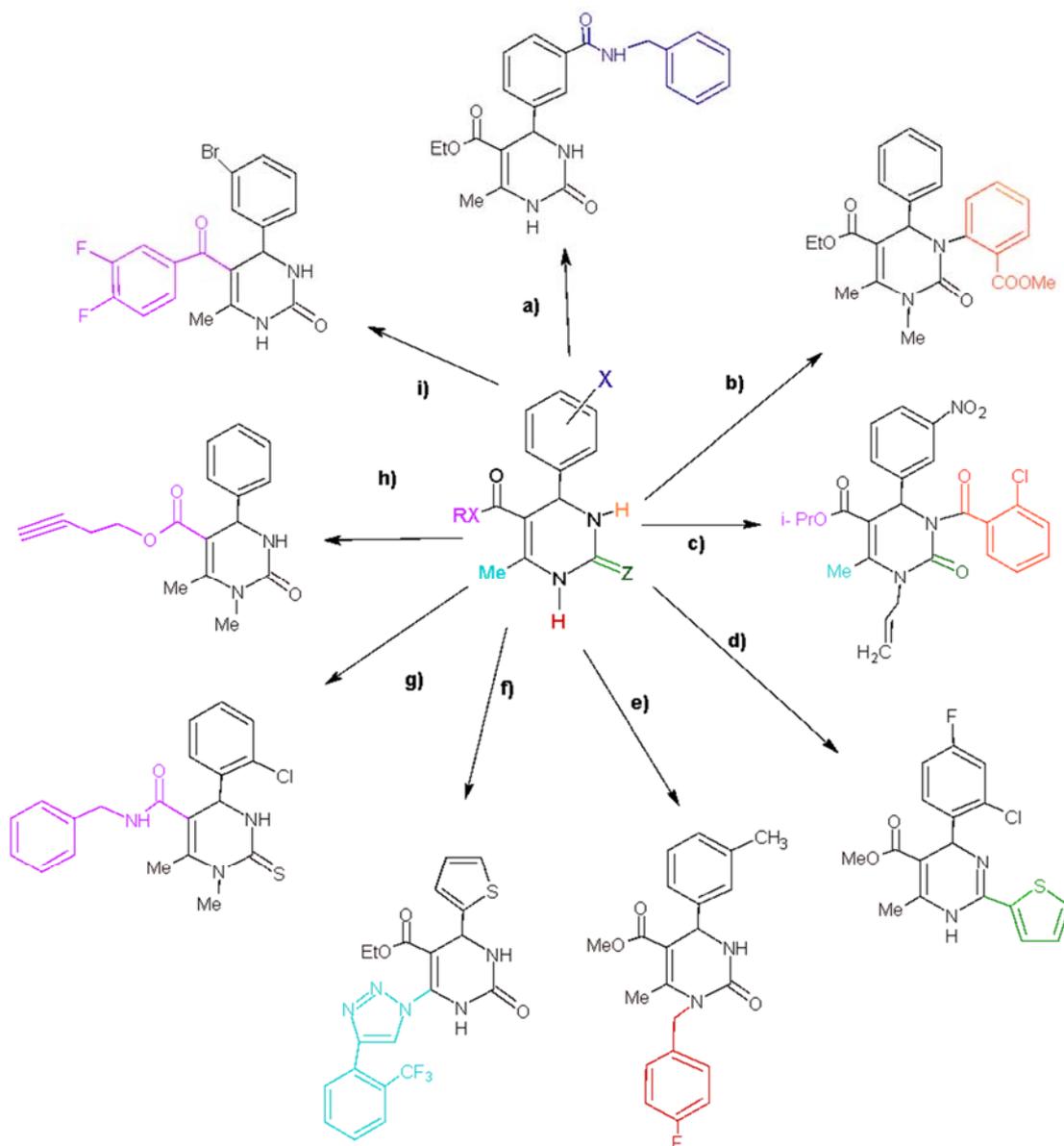
Figura 3.10: Compuestos marcados preparados por síntesis orgánica asistida por microondas.

Andersen han aplicado esta técnica en conjunto con catalizadores de metales de transición en la síntesis de Tipanavir, un fármaco utilizado en combinación con el Ritonavir en la terapia antiretroviral en pacientes infectados con VIH-1. Como se puede ver en el Esquema 3.10, las reacciones se llevaron a cabo usando los mismos pasos que en la síntesis tradicional, sin embargo, los tiempos de reacción para producir un buen rendimiento se redujeron desde horas a tan solo unos pocos minutos.



Esquema 3.10: Alquilación asimétrica catalizada por molibdeno bajo irradiación microondas en la síntesis de Tipanavir.

A los cortos tiempos de reacción se suma la alta tasa de selectividad de las reacciones que utilizan este medio alternativo de calentamiento, las que han abierto una puerta en la generación de numerosas bibliotecas de nuevos compuestos. Un ejemplo de ello es el que se presenta en el Esquema 3.11, donde se obtuvieron sub-bibliotecas a partir de scaffolds de dihidropirimidinas utilizando una gran diversidad de reacciones clásicas.



Esquema 3.11: Esqueleto de dihidropirimidina utilizado para crear 9-sub-biotecas a partir de las siguientes reacciones: a) aminocarbonilación catalizada por Pd (X=Br), b) N- arilación catalizada por Cu, c) N-acilacion con cloruros de ácido o anhídridos, d) reacción del tipo Liebeskind-Srogl catalizada por Pd (Z<C=>S), e) N-alquilación de Mitsunobu, f) cicloadición de azida-alquino catalizada por Cu (después de la bromación C6 y el desplazamiento con azida), g) alquilación de Mitsunobu (RX=OH), h) reacción de Liebeskind-Srogl catalizada por Pd(RX=EtS), i)Formación de enlaces amida(RX=OH).

Referencias

- Furlán, R. et al (2012). *Química Combinatoria: Metodologías relacionadas con la generación de la diversidad molecular*. México: Fondo de cultura económica. ISBN 978-607-16-0670-9
- Kappe, C. O. et al (2005) *Microwaves in Organic and Medicinal Chemistry*. 5th ed. Wiley-VCH.
- Kappe, O. (2018). My Twenty Years in Microwave Chemistry: From Kitchen Ovens to Microwaves that aren't Microwaves. *The chemical Record*, 18, 1–26.
- Patrick, G. (2015). *An Introduction to Drug Synthesis*. Oxford University Press.