

irus en laciares

eatriz S. Méndez

Departamento de Química Biológica. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.

Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires, Argentina

bea@qb.fcen.uba.ar

[Versión para imprimir](#)

Todos sabemos que los microbios, bacterias y virus, son capaces de colonizar ambientes fuera del alcance de los humanos como de tantas otras especies. Por ejemplo se los encuentra en glaciares. El estudio de estos hábitats tan excéntricos para sostener la vida demostró la presencia de comunidades bacterianas compuestas por muy pocos miembros entre 10^2 - 10^4 células por ml que representan, se supone, a los microorganismos presentes en el ambiente en el momento de su formación [1,2].

La presencia de virus es abundante en el mar e interactúan con las bacterias tanto destruyéndolas como colonizándolas [3,4]. En glaciares por el contrario solo hubo indicios de su presencia [5,6]. El escaso número de bacterias en un ecosistema tan complejo dificulta la detección de virus, que con seguridad existen y que probablemente infectaron a las bacterias antes o tal vez después de ser absorbidas por el hielo. Si bien, a pesar de su escasa presencia, se han identificado y caracterizado las bacterias en los glaciares, las condiciones ambientales han dificultado su estudio molecular dada la dificultad de acceder a suficiente material para conocer su genoma mediante secuenciación parcial o total [7]. Aún más, si bien se dispone de métodos para obtener núcleos de hielo adecuados para el estudio de los microorganismos presentes en los mismos, las dificultades propias de ambientes tan complejos asociadas a la presencia de bacterias y virus contaminantes han impedido la generación de métodos estándar de aplicación general.

En un trabajo reciente se eligió un enfoque interesante para lograr dicho objetivo, sus autores provenientes de distintos laboratorios de Estados Unidos, proponen primero crear núcleos de hielo artificiales conteniendo bacterias y virus conocidos y desarrollar en los mismos los métodos de purificación para luego aplicarlos a muestras obtenidas de núcleos reales. Claro que estos no se hallan en sitios de fácil acceso sino en el glaciar Guliya ubicado la montaña Kulum que se encuentra en meseta Tibetana-Qinghai dentro de la provincia de Qinghai, en China [8].

revemente lo que hacen es construir núcleos de hielo artificiales, cubrirlos con bacterias, virus y el DNA del fago λ . Se eligieron *Cellulophaga báltica* y el fago *Pseudoalteromonas* PSA--HP1 provenientes de climas fríos. A estos núcleos los van tratando con un proceso de eliminación con tres capas mediante corte, tratamiento con etanol y finalmente con agua. La eficiencia de los tratamientos se determina en cada una de las 3 capas por qPCR (PCR cuantitativa) y el caso del DNA de λ por nested PCR (Dos conjuntos de *primers* y dos reacciones sucesivas). De esta manera pudieron comprobar la eliminación de bacterias, virus y DNA contaminantes dejando el centro del núcleo limpio.

Una vez obtenidos estos datos el procedimiento se aplicó a dos núcleos de hielo natural en el glaciar Guliya, cuya ubicación se indicó previamente [8]. Uno en la cumbre del glaciar (S3) y el otro en la meseta (PS). S3 se obtuvo en 2015 y PS en 1992. Muestras de los mismos se analizaron en tres capas mediante el método 16S rRNA gene amplicon sequencing.

Se encontró que hay géneros abundantes detectados en ambos núcleos i.e *Janthino bacterium* y *Flavobacterium* indicando que los mismos indudablemente están adaptados al clima frío, sin embargo dicha abundancia varía a lo largo de las muestras indicando distintas etapas temporales de

incorporación a dichos nichos. Paralelamente se encontró que también había géneros bacterianos presentes en ambos nichos situados en la cumbre y la meseta del glaciar, también había diversidad, lo cual es lógico, ya que las comunidades bacterianas se incorporaron a lo largo del tiempo bajo distintas condiciones climáticas.

¿Y los virus junto a sus sacrificadas anfitrionas?

También se los buscó y las 2 muestras a analizar se obtuvieron de la cumbre del glaciar y correspondían a distintas características: antigüedad aproximadamente 520 y 15000 años; climas de distinta temperatura y distintas concentraciones de polvo ambiental.

Dado que la concentración de virus es muy pequeña en las muestras se recurrió a un método de secuenciación del metagenoma (Targeted Viral Metagenomics) que condujo a la obtención de 33 poblaciones virales en las muestras analizadas. Las mismas se compararon con secuencias presentes en banco de datos y se llegó a la conclusión final que solamente un 12% podía asignarse a géneros conocidos 3 pertenecientes a la familia *Siphoviridae* y 1 a la familia *Siphoviridae*. Los virus se relacionaron con sus hospedadores *in silico* mediante BLAST un buscador que encuentra similitudes entre distintas secuencias y calcula su significado estadístico. VHostMatcher, basado en la comparación de la frecuencia de oligonucleótidos y CRISPR analiza genomas de bacterias y archaeas en bases de datos detectando similitud en las secuencias. Los resultados indicaron que *Methylobacterium*, *Sphingomonas*, and *Janthinobacterium* eran los hospedadores más probables de los virus. Resultados esperados dada la abundancia de muchos miembros de estos géneros en los nichos de hielo estudiados.

El método ha demostrado ser eficaz por lo cual su aplicación sería de utilidad para otros glaciares. Nosotros bien sabemos de la existencia de glaciares en los más diversos lugares en el mundo, incluso en nuestro país. Muchos de ellos son reconocidos y admirados por su belleza y fácil acceso. Sin embargo cumplen una función más bien alejada de una atracción turística. Son reservorio de información a lo largo de miles de años ya que a través de la presencia de los microorganismos y sus virus podemos conocer las características del clima y de las condiciones ambientales en el momento de su incorporación.

El cambio climático actual, debido a las actividades humanas, también tiene su efecto sobre los glaciares que van perdiendo su volumen y liberan en el ambiente las bacterias y sus virus presentes durante miles de años cuyas características desconocemos [9]. Si bien esto conduce a la pérdida de conocimiento sobre condiciones climáticas a lo largo de los siglos también es muy probable que origine la liberación al ambiente de bacterias y virus patógenos desconocidos.

En nuestro país existen glaciares, el más famoso de ellos el glaciar Perito Moreno (figura1). Está ubicado en la provincia de Santa Cruz en el sur del país a Latitud 50' 32' Sur y Longitud 73' 10' Oeste. A pesar que la mayoría de los glaciares se están contrayendo, como fue señalado anteriormente, uno de los pocos que se mantiene en estado de equilibrio es justamente el Perito Moreno .



Figura 1: *Glaciar Perito Moreno, Provincia de Santa Cruz, Argentina.*

Las actividades humanas que ignoran o no valoran la importancia de sus efectos sobre el clima pueden conducir a situaciones de no retorno con imprevisibles consecuencias para la vida humana actual.

Referencias:

1. **Hotaling S, Hood E, Hamilton T** (2017) Microbial ecology of mountain glacier ecosystems: biodiversity, ecological connections and implications of a warming climate. *Environmental Microbiology* 19:2935-2948.
2. **Whitman WB, Coleman DC, Wiebe WJ** (1998) Prokaryotes: the unseen majority. *Proceedings of the National Academic of Science of the United States of America* 95:6578-6583.
3. **Weitz JS, Wilhelm SW** (2012) Ocean viruses and their effects on microbial communities and biogeochemical cycles. *Biological Reports* 4:17.
4. **Brum JR, Sullivan MB** (2015) Rising to the challenge: accelerated pace of discovery transforms marine virology. *Nature Reviews Microbiology* 13:147-159.
5. **Priscu JC, Christner BC, Foreman CM, Royston-Bishop G** (2006) Biological material in ice cores. In Elias SA (ed), *Encyclopedia of quaternary science*, 1st ed. *Amsterdam:Elsevier*.
6. **Castello JD, Rogers SO, Starmer WT, Catranis CM, et al** (1999) Detection of tomato mosaic tobamovirus RNA in ancient glacial ice. *Polar Biology* 22:207-212
7. **Ram V** (2009) Analysis and characterization of 823 microbes from ancient glacial ice. PhD thesis. Bowling Green State University. *Bowling Green: Ohio*.
8. **Ping Zhong,E, Solonenko,NE, Li YF, Gazitúa MC, et al.** (2020) Glacier ice archives fifteen- thousand- year .old viruses. DOI: <https://doi.org/10.1101/2020.01.03.894675>
9. **Legendre M, Lartigue A, Bertaux L, Jeudy S, et al.** (2015) In-depth study of Mollivirus sibericum, a new 30,000- y-old giant virus infecting Acanthamoeba. *Proceedings of the National Academic of Science of the United States of America* 112:E5327-E5335.

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 2, año 19, Agosto 2020

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Qué preende el ovi ien o “an ivacunas”?

Juan Carlos Calvo

Departamento de Química Biológica, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires e Instituto de Biología y Medicina Experimental, CONICET.

Buenos Aires, Argentina

juacalvo@gmail.com

[Versión para imprimir](#)

Con mucha preocupación, veo la irrupción casi continua de envíos de textos, videos, supuestos datos científicos, a través de las redes sociales, que alertan sobre la peligrosidad de las vacunas o tratan de imponer tratamientos para la enfermedad de COVID-19 (recordemos que el virus es el SARS-CoV-2 y que COVID-19 es la enfermedad), que no están probados en su eficacia o totalmente contraindicados por su toxicidad.

Entendamos que, detrás de cada medicamento que sale a la venta para uso en animales (sean estos humanos o no) hay una cadena de protocolos que debieron cumplirse para asegurar su seguridad y eficacia. En general se considera que, de miles de moléculas potencialmente utilizables, a lo largo de unos 10 años, tal vez 1 o muy pocas resulten en un medicamento aprobado para una determinada enfermedad.

A las presentaciones a comités de ética en investigación, entidades regulatorias, siguen las pruebas en cultivos celulares, en animales de experimentación (también bajo estrictos controles por las entidades correspondientes, para asegurar el menor sufrimiento de los animales, como también la racionalidad de los proyectos), hasta llegar a las fases clínicas que involucran desde voluntarios sanos hasta pacientes en cada etapa, a fin de asegurar la seguridad, dosis adecuadas y la eficacia. Si todo esto no fuese suficiente, una vez puesta en el mercado, un estricto protocolo de farmacovigilancia se encarga de continuar la verificación de la posible aparición de algún efecto no detectado en etapas anteriores.

Como decía Paracelso (Theophrastus Phillippus Aureolus Bombastusvon Hohenheim) en una de sus frases más célebres: “Nada es veneno, todo es veneno: la diferencia está en la dosis.” Con esto indicaba que cualquier sustancia puede ser un medicamento o un veneno, dependiendo de la cantidad administrada. Es decir, cualquier procedimiento que se realice en un individuo no está exento de riesgos, desde comer una almendra hasta darse una vacuna. Lo importante es que esos riesgos hayan sido reducidos al mínimo tolerable. Y para esto están todos los pasos que se detallaron.

Me gustaría comenzar a analizar lo que se difunde sobre ciertos posibles medicamentos (o sustancias que algunas personas perciben como posibles medicamentos) para tratar la enfermedad COVID-19:

- *Hidroxiclороquina*: este medicamento se utiliza para el tratamiento de enfermedades muy específicas, tales como el paludismo, la malaria o alguna autoinmune como el lupus. Es decir que tiene indicaciones muy precisas para su receta y utilización. Estrictamente, nadie debería auto administrarse un medicamento para tratar una afección diferente a aquella o aquellas para las que fue estudiado. Y esto va también para analgésicos de uso tan diseminado como, por ejemplo, el ibuprofeno para el que se conocen casos de personas que estuvieron al borde de la muerte por una reacción alérgica al mismo. No existen datos científicos concretos que permitan suponer que la hidroxiclороquina tenga efectos positivos en el tratamiento de COVID-19.
- *Ibuprofeno*: si bien existen estudios con una variante molecular o una preparación particular de esta sustancia, tampoco hay evidencias científicas concretas sobre su efectividad.

- *Remdesivir*: este fármaco antiviral es la única droga que pareciera tener algún efecto, aunque todavía sigue en etapa experimental para este virus, y que fue autorizada por la FDA (Food and Drug Administration) para tratamiento de pacientes en situaciones muy comprometidas. Es decir que tuvo una autorización condicional, significando que se considera que satisface una necesidad médica no cubierta y que el beneficio para la salud pública de su inmediata disponibilidad supera a la incertidumbre derivada de la limitación de los datos disponibles.
- *Dióxido de cloro* (no es estrictamente un medicamento sino que algunas personas lo ven como si lo fuese): Este gas puede estabilizarse para su uso como bactericida para el tratamiento de aguas y que, ante la luz solar se descompone en los gases cloro y oxígeno. En el agua, puede descomponerse para dar el ión clorito y, eventualmente, clorato. Estos iones el dióxido de cloro y el clorito reaccionan rápidamente en el agua y tejidos húmedos del cuerpo. Si alguien respirara aire que contiene dióxido de cloro gaseoso, podría sufrir irritación de la nariz, la garganta y los pulmones. Si se tragaran grandes cantidades de dióxido de cloro o clorito, podría sufrir irritación de la boca, el esófago o el estómago. Si bien la mayoría de las personas no se expondrán al dióxido de cloro o al clorito en cantidades suficientemente altas como para causar daño en otras partes del cuerpo, la exposición a cantidades muy altas de dióxido de cloro o clorito, podría llevar a falta del aliento y otros problemas respiratorios debido al daño que causan estas sustancias a la capacidad de la sangre para transportar oxígeno a través del cuerpo (Agencia para Sustancias Tóxicas y el Registro de Enfermedades, DEPARTAMENTO DE SALUD Y SERVICIOS HUMANOS de los Estados Unidos de Norteamérica).

Ahora veamos cómo atacan a las vacunas.

Comencemos diciendo que las decisiones que una persona tome y que afecten únicamente su vida, pertenecen al ámbito privado y no deberían ser objeto de crítica, como por ejemplo si alguien decidiese hacerse vegetariano o vegano. Si esa persona obligara a otra a tomar la misma decisión, ahí estaría violando el libre albedrío. Pero, cuando se trata de vacunación o no, la decisión personal inmediatamente tiene una trascendencia social, habida cuenta de lo que significó el desarrollo y utilización de vacunas en el mundo y a través de los años para erradicar enfermedades que hubiesen diezmando la población mundial y que, en la actualidad muchas de ellas han sido erradicadas (dos de los tres virus que causan poliomielitis, viruela, etc.). Por eso que esa decisión no quedaría dentro de la libertad de albedrío, por tratarse de una cuestión de salud pública.

Dicho esto, pasemos a revisar los diversos conceptos que se han volcado como manera de justificar la decisión de no vacunarse.

- *Las vacunas producen autismo*: Dos estudios son citados como los demostrativos de esa aseveración. El primero, en 1998, por el grupo del Dr Wakefield, indicando que la vacuna contra sarampión, paperas y rubéola podía provocar, entre otras cosas, autismo. El segundo, en 2002 y por el mismo grupo, relacionando el virus de las paperas con autismo. Ambos trabajos fueron cuestionados por el diseño experimental y el ocultamiento de datos, debiendo ser retractados por la revista donde habían sido publicados (Revisión por Paul A. Offit, MD, Lori Handy, MD, MSCE, Heather Monk Bodenshtab, PharmD, May 07, 2018. Hospital de niños de Filadelfia, E.E.U.U.). En resumen, esos trabajos que dieron pie a esta supuesta alerta no tienen fundamento científico alguno.
- *Presencia de metales pesados en la composición de la vacuna*: en este punto, parten de datos ciertos, pero con conclusiones equivocadas. Es verdad que algunas vacunas, las llamadas de dosis múltiples, contienen timerosal como agente antimicrobiano. Este compuesto, comúnmente encontrado en agentes desinfectantes de uso común y distribuido ampliamente, es un derivado mercurial (etilmercurio) que, en este tipo de vacunas, tiene por objeto impedir que, entre una dosis y otra, la solución remanente sufra crecimiento de microorganismos. Las vacunas monodosis, como son la mayoría, no contienen este compuesto. De todos modos, la presencia de este metal pesado constituye una proporción mínima que no causa daño alguno al organismo, dado que se distribuye entre muchos tejidos y es eliminado en las heces y orina, sin posibilidad de acumularse en el tejido neuronal a largo plazo, como indican los “antivacunas”. Tampoco es cierto que no pueda quelarse (complejarse con

sustancias químicas que lo inhabiliten para provocar daño en las células) dado que este proceso de quelación es de uso común para eliminarlo del organismo ante una ingestión aguda. Por si quedara alguna duda, se modificó la estructura química del metal cambiando de metilmercurio a etilmercurio dado que esta variante se elimina mucho más rápidamente del organismo. Es decir que no es cierto que la posible presencia de mercurio sea de toxicidad potencial para el organismo. Si esto fuese así, estaríamos más expuestos a este metal por los implantes dentales que todavía algunos de nosotros tenemos en la dentadura.

- *Aluminio*: es cierto que muchas vacunas contienen alguna forma molecular de aluminio en su composición. La función de este es colaborar con la respuesta inmunológica, al actuar como “adyuvante” del antígeno. Esto significa lo siguiente: la cantidad de antígeno (elemento generador de la respuesta inmunológica) puede no resultar suficiente como para desencadenar una respuesta importante y, si se administrara una cantidad mucho mayor podría desencadenar efectos colaterales posiblemente severos. Entonces, se agregan sustancias que, de por sí no resultan tóxicas para la salud pero que, en conjunto con el antígeno, exacerban la respuesta inmunológica y, de este modo, la eficacia de la vacuna en cuanto a la producción de anticuerpos se ve muy mejorada. La cantidad de aluminio que podría encontrarse en una dosis de vacuna es inferior al 1% de la encontrada en la leche materna, por lo que no constituye un peligro sanitario. El aluminio es de los metales que tienen una distribución muy generalizada en el ambiente pero que, la cantidad a la que estamos expuestos no resulta dañina para el organismo.

Es decir que, la aseveración por parte de las personas “antivacunas” de que los metales pesados presentes en las vacunas se depositarían en el sistema nervioso, para siempre, sin posibilidad de eliminación y generando un daño persistente, resulta totalmente falsa.

Otra aseveración falsa: los otros componentes de las vacunas, excipientes, resultan citotóxicos (dañinos para las células). Estos constituyen conservantes, estabilizantes, antibióticos, como agregados para mantener la calidad de la vacuna durante el transporte y almacenamiento. Ninguno de estos se encuentra en cantidad suficiente como para representar un peligro a la salud y, además, muchos son componentes naturales (tales como azúcares, aminoácidos, etc.) o presentes en alimentos donde cumplen la misma función. Por lo tanto, ninguno de estos es citotóxico. Recordemos, además, que en el proceso de elaboración de la vacuna se utilizaron cultivos celulares para, precisamente, comprobar y descartar la citotoxicidad del preparado. Incluso el formaldehído, utilizado para inactivar el virus para la vacunación (aquellas que usan virus inactivado) aparecerá en proporciones muchísimo menores (hasta 50 veces menos) que las que podrían encontrarse en una pera (Vaccine Knowledge Project, Universidad de Oxford, Reino Unido).

Ahora vamos a pasar a uno de los últimos agregados en contra de las vacunas: dado que las vacunas se preparan, la mayoría de las veces, utilizando células para la replicación viral, el material genético de las mismas sería incorporado al del organismo receptor, dando lugar a modificaciones genéticas (efectos genotóxicos como los describen) permanentes. Es cierto que células tales como las citadas en un video que anda circulando, VERO y HEK, entre otras, se utilizan para la fabricación de vacunas. La idea es que el virus se reproduzca en ellas y permita la obtención de una buena cantidad como para proseguir con el desarrollo de la vacuna. Las características de estas líneas celulares, tales como estabilidad, condiciones de crecimiento, posibilidad de ser utilizadas para una variedad de virus, etc., las convierten en unas de las elegidas para esta tarea. Años de utilización demostraron la seguridad de trabajar con estas líneas celulares. Por otra parte, una vez terminado el cultivo, las partículas virales son purificadas a partir del mismo y muy poco, si algo, quedará como remanente en la preparación final de la vacuna. Ciertamente, las chances de que algún material celular quede como remanente en la vacuna son, prácticamente, nulas. Todos los días ingerimos material genético en nuestra comida, sea este animal o vegetal y de ninguna manera el mismo resulta integrado a nuestro material genético.

- *Presencia de virus de simio (SV40)*: otra de las aseveraciones que están apareciendo es que algunas vacunas contienen un virus de simios, que podría causar alguna enfermedad en el humano. Si bien es

cierto que, antes de 1963, algunas de las vacunas contra la poliomielitis podían contener algunas partículas virales SV40, nunca pudo demostrarse un efecto de este virus en las personas que recibieron la vacuna. Es más, existe evidencia de que personas que nunca recibieron esas vacunas presentaron material genético de SV40 en algún tipo de cáncer. Desde 1963 no hay vacunas que incluyan ese virus. Es decir, tampoco esta es una razón valedera para estar en contra de la vacunación.

Veamos ahora, para finalizar, el último ataque contra la posible vacuna contra el SARS-CoV-2 (responsable de la enfermedad COVID-19).

La vacuna que está por probarse en nuestro país posee material genético del virus en la forma de RNA mensajero (ácido ribonucleico mensajero). Este es el material genético presente en el virus y lleva la información para la producción de todas las proteínas que necesita el virus para replicarse. En el caso de la vacuna, este RNA mensajero solamente contendrá la información para la síntesis de la proteína Spike (espiga) que es la que da el nombre al coronavirus y cuya función es la de reconocer al punto de anclaje sobre la célula que infectará y, de este modo, permitir su ingreso al interior celular. Este material genético carece de todas las secuencias que serían necesarias como para insertarse en el genoma de la célula que infecte, como tampoco podría sufrir lo que se conoce como retrotranscripción (síntesis de DNA a partir de RNA) que sería un requisito para integrarse en el DNA celular. Es decir que, no hay modo alguno por el que esta vacuna termine integrando el material genético viral al paciente que la reciba.

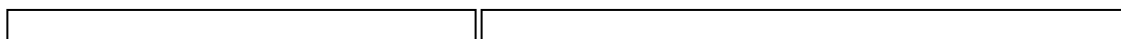
También está circulando la información, conociendo que la vacuna a probarse en nuestro país es una elaboración de laboratorios Pfizer, junto a otra compañía biotecnológica, de que en 2011 Japón dejó de vacunar a niños con la vacuna Prevenar por la muerte de 4 niños. Lo que no dicen es que fue una medida preventiva mientras se averiguaban las causas y que 3 de esos niños habían recibido no solamente esa vacuna sino otra vacuna (ActHIB de otro laboratorio) junto con una triple (difteria, tos convulsa y tétanos) en el mismo día. Tampoco indican que, finalizada la investigación, se determinó que el fallecimiento de esos niños nada tuvo que ver con la vacunación.

Como si todo esto no fuese suficiente, están esparciendo la voz sobre una vacunación compulsiva en la población. El estudio clínico involucra la participación de voluntarios. De todos los que se presenten, solamente unos serán reclutados y de acuerdo con criterios específicos de inclusión. Desde 1932, año en que comenzara un estudio clínico en la localidad de Tuskegee, estado de Alabama, con la finalidad de evaluar la progresión de la sífilis y donde las personas involucradas no tenían idea de que eran los conejillos de Indias para ese proyecto y cuya duración fue de 40 años, que no se puede realizar un estudio de esta naturaleza sin que exista un consentimiento informado y firmado por los participantes. Precisamente, aproximadamente en 1972 año en que finaliza el estudio de Tuskegee, comienza a debatirse seriamente la necesidad de un consentimiento informado para cualquier tipo de tratamiento, donde el participante debe conocer todo lo que se le va a practicar, como también los posibles riesgos y, además, tener la opción de abandonar el estudio en el momento que desee.

Me parece que es tiempo de dejar de lado las teorías conspirativas, las informaciones falsas o el falseamiento de datos reales sacados fuera de contexto, sobre todo en algo de tanta importancia para la salud humana mundial, como es la utilización de herramientas terapéuticas que han probado, más allá de cualquier duda, ser eficaces en prevenir enfermedades muy serias para la población general.

Entiendo que me he extendido en la explicación, pero considero que es importantísimo brindar la información correcta en un tema tan sensible como la salud pública, especialmente en tiempos como los que estamos viviendo.

Contacto del autor: <https://www.youtube.com/channel/UCz5npNyIW15NYtZKhB7RoCg>



 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 2, año 19, Agosto 2020

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Entrevista

Dra. Hebe Dionisi

Texto: Erina Petrerá

[Versión para imprimir](#) 

Hebe Dionisi es investigadora independiente del CONICET y dirige el Laboratorio de Microbiología Ambiental del Centro para el estudio de sistemas marinos, CCT CONICET-CENPAT, Puerto Madryn.



QV ¿Cuál es tu título de grado?

HD Soy Licenciada en Ciencias Biológicas.

QV ¿Estudiaste biología en Mar del Plata por alguna razón en particular?

HD Viví allí con mi familia durante mis estudios de grado, así que estudié en la ciudad donde vivíamos. Comencé mi carrera de grado en la Universidad Nacional de Córdoba, donde estudié Biología durante dos años y medio. Luego, al mudarnos me inscribí en la Universidad Nacional de Mar del Plata (UNMdP), tramité equivalencias sobre lo que ya tenía aprobado, y continué hasta recibirme. Me llevó más tiempo recibirme porque los planes de estudio eran muy diferentes, pero fue un buen cambio porque el plan de estudios de la UNMdP era más moderno en ese momento.

QV ¿Cómo decidiste o encontraste el tema de tu doctorado?

HD Me interesaba la microbiología, y en la Facultad de Ciencias Bioquímicas y Farmacéuticas de la Universidad Nacional de Rosario había grupos excelentes trabajando en esta disciplina, lo cual continúa actualmente. Hice mi tesis con Alejandro Viale, estudiando el plegado de proteínas asistido por chaperones moleculares. Durante mi doctorado se formó el Programa Multidisciplinario de Biología Experimental (PROMUBIE), que luego se transformó en el Instituto de Biología Molecular y Celular de Rosario (IBR) que acaba de cumplir 20 años.

QV ¿Te parece importante realizar una pasantía en el exterior?

HD Sí, me parece importante para la formación de un científico trabajar un tiempo en el exterior. Además de adquirir nuevos conocimientos, esta experiencia provee herramientas para la cooperación internacional más tarde en la carrera. Estas colaboraciones son esenciales para la ciencia, en particular en ciertas disciplinas en donde los recursos económicos y la infraestructura son a menudo limitantes en nuestro país. En mi caso investigué cuatro años y medio en el Centro de Biotecnología Ambiental de la Universidad de Tennessee, en Knoxville, Tennessee, Estados Unidos, los dos primeros años con una beca postdoctoral de CONICET. Elegí este centro porque fue pionero en el uso de herramientas de la biología molecular en estudios de biotecnología ambiental, como el desarrollo de herramientas de monitoreo ambiental. En mi postdoctorado me centré en el estudio de las bacterias nitrificantes en plantas de tratamiento de efluentes, y tuve la oportunidad de colaborar en otros temas que se desarrollaban en ese momento.

QV ¿Siempre estuviste relacionada con la microbiología?

HD Desde que comencé mi doctorado, en el año 1992, he estado trabajando en microbiología, y llevo más de 20 años estudiando comunidades microbianas utilizando métodos independientes del cultivo. En estos años las herramientas han cambiado radicalmente, desde la limitada información que nos proveen las bibliotecas de genes, hasta los análisis más abarcativos que permiten la metagenómica y otras ómicas. La primera etapa para la construcción de las bibliotecas de genes y sets de datos metagenómicos es la misma, la purificación de ADN a partir de una muestra ambiental. En el primer caso utilizamos este ADN para amplificar un fragmento de un gen a partir de los distintos miembros de la comunidad microbiana, los clonamos y analizamos los clones de forma individual. Estos estudios son muy laboriosos, por lo que hay un límite en el número de genes que podremos analizar. Las herramientas de secuenciación en gran escala han permitido analizar estos productos de la amplificación de una forma más profunda, secuenciando decenas o centenas de miles de fragmentos de una muestra. Si este análisis se basa en un gen presente en una gran parte de los microorganismos de la comunidad, como el gen que codifica para el ARN ribosomal 16S, podremos estudiar en detalle la estructura de las comunidades microbianas, es decir, quiénes están allí, al menos para el grupo de microorganismos para los cuales pudimos amplificar el gen. Esto depende de la cobertura que tengan los cebadores que estamos utilizando, y es una limitación que presenta esta metodología. Por otra parte, si secuenciamos al azar el ADN que purificamos de la muestra ambiental, sin una amplificación previa, tendremos un catálogo de genes que nos permite estudiar el potencial metabólico de la comunidad. Esta última estrategia se denomina metagenómica.

QV ¿Cuál es tu tema actual de investigación?

HD En nuestro laboratorio estudiamos a las comunidades de microorganismos que habitan en los ambientes costeros de la Patagonia. Nos interesa conocer su diversidad, su potencial genético, los microorganismos que son claves para disminuir los impactos de las actividades humanas sobre el ambiente, y los mecanismos que éstos utilizan. Más recientemente, hemos comenzado a desarrollar una línea de investigación en la que estudiamos cómo las bacterias marinas degradan a los polisacáridos de las algas pardas, muy abundantes en los ambientes costeros de la Patagonia. En nuestro laboratorio estamos expresando y caracterizando enzimas que participarían de este proceso identificadas en bacterias marinas no cultivadas. Otra línea de investigación del laboratorio, liderada por la investigadora Mariana Lozada cuya especialidad es la ecología microbiana, estudia las relaciones que existen entre las grandes praderas del alga parda invasora *Undaria pinnatifida* y los microorganismos que habitan en estos ambientes.



ebe de Dionisi muestreando en Ushuaia.

QV ¿Cuál es la relevancia del tema?

HD Los microorganismos marinos constituyen la mayor parte de la biomasa de los océanos, cumplen roles claves para el funcionamiento de estos y para la salud de nuestro planeta, además de ser un reservorio de diversidad genética con múltiples aplicaciones biotecnológicas. Los procesos que estudiamos están relacionados con el ciclo del carbono en ambientes costeros impactados, y su capacidad de secuestrar el carbono fijado por las macroalgas. Además, las enzimas que estamos caracterizando tienen aplicaciones industriales, como por ejemplo para producir oligosacáridos con propiedades biológicas a partir de la biomasa de las macroalgas de la región, en particular de *U. pinnatifida*.

QV Lo que están haciendo es muy interesante ya que estarían produciendo enzimas que permitirían explotar a una especie invasora. ¿Hay alguna empresa o industria que esté interesada en el tema y que subvencione la investigación?

HD Esta línea de trabajo ha tenido financiación sólo en los últimos dos años, por medio de un proyecto PICT. Por lo tanto, el proyecto está en una etapa aún temprana. Nos interesa generar colaboraciones con las empresas, no sólo en esta línea de trabajo, pero además para la prospección de otras enzimas que puedan ser de interés para sus procesos. Además, en nuestro laboratorio tenemos un Servicio Tecnológico de Alto Nivel (STAN) de Microbiología Ambiental, en donde ofrecemos el análisis de la estructura de la comunidad microbiana utilizando herramientas moleculares, como método de diagnóstico.

QV ¿Fuiste a Puerto Madryn para poder investigar sobre ese tema o viviendo allá se presentó la posibilidad de trabajar en la temática?

HD Cuando volví a la Argentina fundé el Laboratorio de Microbiología Ambiental en el Centro Nacional Patagónico de la ciudad de Puerto Madryn, en ese momento un Centro Multidisciplinario de CONICET. Recientemente se transformó en un Centro Científico Tecnológico (CCT CONICET-CENPAT), que incluye a ocho unidades ejecutoras en Puerto Madryn, Comodoro Rivadavia y San Antonio Oeste. Los recursos humanos de nuestro laboratorio pertenecen a dos de estas unidades, CESIMAR-CONICET e IBIMAR-CONICET, orientadas al estudio de sistemas y organismos marinos, respectivamente. En un principio la línea de investigación que elegí iniciar en el CENPAT era bastante más acotada, estudiar a los microorganismos claves para la degradación de hidrocarburos poliaromáticos en los sedimentos costeros, por su alta persistencia y peligrosidad. Luego diversificamos las líneas de investigación cuando comenzamos a utilizar herramientas metagenómicas, que nos aportan información más amplia sobre el potencial metabólico de estas comunidades.

QV ¿Utilizas algún modelo?

HD No utilizamos modelos de las comunidades microbianas porque las comunidades de los sedimentos marinos son extremadamente diversas y ocurren cambios a escalas muy pequeñas, por lo que aún no tenemos la información necesaria para ello. Además, se requerirían estudios de la expresión génica, y la síntesis de proteínas y metabolitos en estas comunidades. Una herramienta que utilizamos frecuentemente es el modelado de la estructura tridimensional de secuencias que podrían codificar para las enzimas de interés. Estos modelos son una herramienta más que nos permiten evaluar su posible función y novedad, y seleccionar secuencias para expresar en el laboratorio. Recientemente hemos obtenido un proyecto que

presentamos al programa de biología sintética del Joint Genome Institute (JGI) de Estados Unidos, para la síntesis de más de 70 genes que está basado en la comparación de modelos tridimensionales de secuencias de enzimas que degradan alginatos de algas pardas, pertenecientes a un grupo de microorganismos poco estudiado, el superfilo PVC. El objetivo de este proyecto de investigación básica es estudiar la relación que existe entre la estructura y la función de estas enzimas. Está basado en el análisis de sets de datos públicos y propios de genomas y metagenomas de microorganismos marinos de distintos sitios del mundo. La selección de las enzimas que expresaremos no sólo depende de sus características, sino además de los permisos necesarios para el uso de secuencias de bases de datos relacionados con el Protocolo de Nagoya, lo cual varía en cada país. También hay mucha información genética que fue generada en áreas marinas por fuera de las jurisdicciones nacionales, la mayoría generadas por el proyecto Tara Ocean.

QV ¿Qué opinas sobre la relevancia que ha tomado la microbiología en general en estos últimos años?

HD Gracias a los avances metodológicos de los últimos 15 años, la microbiología ambiental ha avanzado enormemente. Aún falta muchísimo por descubrir, en particular en la microbiología marina por la gran diversidad de microorganismos que habita en este gran ambiente que es el océano global, que conforman el microbioma marino. Hay muchos hábitats para estudiar, que no se limitan sólo al agua de mar o a los sedimentos. Estos hábitats también incluyen a los microorganismos que habitan en otros organismos marinos, el hielo y la nieve marinos, entre otros. La microbiología marina es una disciplina muy poco desarrollada en la Argentina.

QV ¿Cuáles serían las razones por las cuales no está más desarrollada?

HD En general la microbiología ambiental está poco desarrollada en la Argentina, si bien ha habido grandes avances en este sentido en los últimos años. Requiere de una aproximación multidisciplinar y de metodologías a menudo costosas, y falta formar recursos humanos en bioinformática.

QV ¿Te consideras ecologista?

HD Siempre me interesó la protección del medio ambiente, y veo con gran preocupación el estado actual de nuestro planeta. Me interesa abordar estas problemáticas no sólo en nuestras líneas de trabajo, sino también en las actividades de divulgación científica. En el CENPAT estamos desarrollando una herramienta educativa para una materia del último año de la educación secundaria, denominada Problemáticas Contextualizadas de las Ciencias Naturales. También, en nuestro laboratorio hemos escrito un libro de divulgación, disponible de forma gratuita en ResearchGate (https://www.researchgate.net/publication/262288031_LA_BIORREMEDIACION_DE_AMBIENTES_COSTEROS_CONTAMINADOS_CON_HIDROCARBUROS) y que ha sido utilizado en algunas materias del ciclo secundario.

He iniciado recientemente un nuevo proyecto de divulgación científica, a través de mi colaboración con la fundación ProyectoSub. Estamos publicando de forma gratuita una serie de fascículos que incluyen patrones de crochet de especies de los arrecifes rocosos de la Patagonia, e información científica sobre estos organismos y el ambiente en el que habitan. Hasta el momento hemos publicado siete fascículos que abarcaron a especies de cnidarios (organismos con células urticantes como las anémonas y las medusas), y a especies de algas rojas, verdes y pardas. El objetivo es dar a conocer a estas especies, y generar herramientas que puedan utilizarse para enseñar a los niños sobre la biodiversidad marina y la conservación través del juego. La cuenta de Instagram del proyecto es @crochetpatagonia, y los fascículos están disponibles en <http://www.proyectosub.org.ar/recursos-digitales>.


QV Teniendo en cuenta tu interés por el medio ambiente ¿cuál es tu opinión sobre esta pandemia en cuanto a su posible origen y a los cambios que se han observado debido a las cuarentenas?

HD Aún no se conoce el origen del virus. Ciertas actividades humanas y el efecto que tienen sobre los ambientes naturales nos están exponiendo cada vez más a virus como el SARS-CoV-2. Además, estamos usando más recursos de los que nuestro planeta puede proveer anualmente, y estamos pasando esta deuda a las generaciones futuras. Los cambios que se han notado, como la disminución del nivel de contaminación en algunas ciudades, son sólo transitorios.

QV ¿Crees que es más complicado hacer ciencia siendo mujer?

HD Creo que las dificultades que las mujeres enfrentamos en la ciencia se asemejan a las que encuentra cualquier mujer en el mundo laboral.

La página web de nuestro laboratorio es <https://labmicamb.wordpress.com/>

 ISSN 1666-7948 www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar	<i>Revista Química Viva</i> <i>Número 2, año 19, Agosto 2020</i> quimicaviva@qb.fcen.uba.ar
---	--

I genoma del coronavirus

Agustín M. Pardo^{2,3}, Claudio Schuster^{2,3}, María Mercedes Palomino^{2,3}, Adrián Turjanski^{2,3}, Darío A. Fernández Do Porto^{1,2,#}

¹Instituto de Cálculo, ²Departamento de Química Biológica, ³Instituto de Química Biológica (IQUBICEN). Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

dariofd@gmail.com

[Versión para imprimir](#) 

Resumen

En enero de 2020 se reportaría oficialmente el agente causal de una nueva y misteriosa neumonía, una variante de coronavirus: SARS-CoV-2. En pocas semanas e incluso días luego de la aparición del virus, originado en la ciudad China de Wuhan, comenzaron a manifestarse ininterrumpidamente brotes en diferentes lugares de mundo. Casi a la par que esto sucedía, fueron obtenidas las secuencias genómicas de decenas de miles de aislamientos clínicos de los cinco continentes. El hecho de que las secuencias del genoma se obtengan sincrónicamente con el desarrollo de la pandemia permite estudiar el proceso evolutivo de manera simultánea al desarrollo de la misma. Esto representa un evento sin precedentes para la historia científica de la humanidad. En este artículo exploramos la importancia de contar con esta información y cómo nos ayuda a entender el desarrollo de esta pandemia.

Palabras clave: SARS-CoV-2, genómica, filogenia.

The coronavirus genome

Summary

In January 2020, the causal agent of a mysterious new pneumonia, a variant of coronavirus (SARS-CoV-2), was officially reported. After the first appearance of the virus in Wuhan (China), different outbreaks started throughout the world. Almost simultaneously, viral genomes of thousands of clinical isolates were globally sequenced. These genome sequences are being obtained simultaneously with the pandemic allowing us to study the pandemic evolution at the same time of its development. This represents an unprecedented event for human scientific history. In this article we explore the importance of these data and how it can help us to understand the development of SARS-CoV-2 pandemic.

Keywords: SARS-CoV-2, genomics, phylogeny

En diciembre de 2019 un grupo de casos relacionados a una misteriosa neumonía fueron reportados en las cercanías de un mercado de mariscos en Wuhan, China (recientemente reabierto). En enero de 2020 se informó oficialmente el agente causal de estas infecciones respiratorias, una nueva variante de coronavirus: el coronavirus 2 del síndrome respiratorio agudo grave, del inglés, *severe acute respiratory syndrome coronavirus* (SARS-CoV-2).

El primer reporte de coronavirus como agente patógeno humano se remonta a mediados de los años 60, cuando **Tyrrell** y **Bynoe** lograron aislarlo por primera vez a partir de muestras del tracto respiratorio de personas con síntomas de resfriado común.

Estos virus de la Familia Coronaviridae del Orden Nidovirales, deben su nombre al hecho de tener una forma esférica de la que sobresalen unas espículas que les dan la apariencia de una corona. Esta “corona” encierra las instrucciones genéticas para hacer millones de copias de sí misma, información codificada en 30.000 “letras” de RNA (A, C, G y U) [1]. Esta información es la que conocemos como genoma. El virus una vez que infecta la célula hospedadora utiliza la maquinaria de la célula infectada “obligándola” a “fabricar” los distintos tipos de proteínas virales.

COVID-19, enfermedad causada por SARS-CoV-2, es la tercera infección zoonótica de coronavirus conocida después del Síndrome Agudo Respiratorio Severo (SARS), causada por SARS-CoV-1, y el Síndrome Respiratorio del Medio Oriente (MERS), causada por MERS-CoV. Estos tres coronavirus pertenecen al grupo de β -coronavirus (Envuelto, RNA de sentido positivo y no segmentado) [2]. Los genomas de Coronavirus (~26–32 kilobases) constituyen los RNA genómicos más largos que se conocen a la fecha. En enero de 2020 científicos chinos obtuvieron la secuencia de “letras” (secuenciación) del RNA de SARS-CoV-2, aislado de un hombre que trabajaba en el mercado de Wuhan

(identificador del NCBI database NC_045512.2). Ese primer genoma se convirtió en la referencia contra la cual se contrastan todos los genomas secuenciados de SARS-CoV-2.

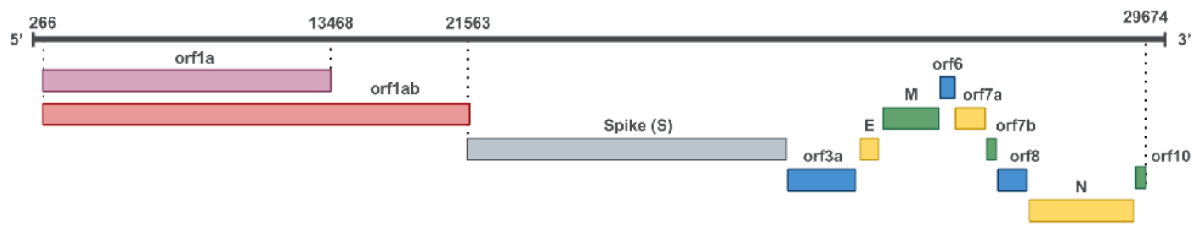


Figura 1: Estructura del genoma del coronavirus de Wuhan.

Este genoma de referencia tiene una longitud de 29,9 kb. Luego de una primera región no codificante de 265 nucleótidos, dos marcos de lectura abiertos: ORF1a y ORF1ab, que corresponden a dos terceras partes del RNA viral y codifican para dos poliproteínas, pp1a y pp1ab, las cuales a través de un proceso de clivaje dan origen a por lo menos 16 proteínas no estructurales (nsp1 a nsp16). Las funciones relacionadas con la síntesis y el procesamiento del RNA residen en las proteínas nsp 7 a nsp 16. La parte restante del genoma del virus codifica para cuatro proteínas estructurales esenciales, incluida la glicoproteína de la espiga (S) (que forman las espículas de la “corona”), la proteína de envoltura pequeña (E), la proteína de la matriz (M) y la proteína de la nucleocápside (N), y también varias proteínas accesorias, que interfieren con la respuesta inmune innata del hospedador [3]. El genoma completo de coronavirus puede ser navegado dentro de la plataforma de desarrollo nacional Target Pathogen (<http://target.sbg.qb.fcen.uba.ar/patho/>) [4].

Mutaciones en el RNA

Una célula infectada libera millones de nuevos coronavirus, todos son copias creadas a partir del RNA genómico original. Cuando la célula infectada “copia” el genoma viral suele cometer errores que generalmente consisten en una sola “letra” equivocada. Estos errores son llamados mutaciones o variantes (cuando se producen en una sola “letra” se las denomina mutaciones de nucleótido único). A medida que los coronavirus se transmiten de persona a persona y se produce el sucesivo “copiado”, acumulan mutaciones al azar. Estas mutaciones son las que utilizan los investigadores para rastrear la propagación del virus por el mundo. Las nuevas mutaciones se acumulan en los virus a un ritmo más o menos regular, por lo que a partir de la tasa de mutación viral se pudo inferir que el origen del brote fue anterior a diciembre de 2019.

Un genoma secuenciado a continuación, proveniente de otro de los primeros pacientes de Wuhan, era idéntico al primer caso, excepto por una mutación. En la posición 186 del RNA viral se encontraba una U en lugar de una C (esta región corresponde a la posición no codificante 5’).

Esta misma mutación se encontró en una muestra recolectada casi dos meses después en la región de China denominada Guangzhou. Este hecho nos da una idea que la muestra de Guangzhou sería descendiente directa de la primera muestra de Wuhan o que tanto la muestra de Wuhan como lo de Guangzhou compartían un ancestro común. También podría ser el caso de que en ambos genomas hubiera ocurrido azarosamente la misma mutación “*de novo*”, un fenómeno conocido como homoplasia. Sin embargo, la acumulación de las mismas mutaciones “*de novo*” en dos aislamientos virales separados temporal y geográficamente es un fenómeno poco probable, por lo que dos muestras que han adquirido las mismas variantes con respecto al genoma de referencia probablemente se encuentren emparentadas. En estas suposiciones se basan los científicos para poder predecir el origen y propagación de la pandemia.

El linaje de Guangzhou continuó saltando de persona a persona. En el camino, desarrolló dos nuevas variantes: dos letras más del RNA cambiaron a U.

A diferencia de la primera mutación, las dos nuevas encontradas en los genomas de Guangzhou sí se encontraban en regiones codificantes que modificarían las proteínas del virus.

Las proteínas son cadenas lineales de aminoácidos que se pliegan en el espacio adoptando distintas conformaciones. Cada aminoácido está codificado por tres letras en el RNA (denominados codones). Sin embargo, en algunos casos, una variante en la tercera letra de un codón seguirá codificando el mismo aminoácido. Estas mutaciones llamadas “silenciosas” no producen cambios en la proteína resultante.

Las mutaciones “no silenciosas” sí cambian los aminoácidos de una proteína. De todas formas, cambiar un solo aminoácido de la proteína no siempre varía su forma o funcionamiento.

Son estas mutaciones que se van acumulando en los genomas del coronavirus lo que permite a los científicos rastrear la propagación del virus alrededor del mundo.

Desde que la primera secuencia de genoma completo del nuevo coronavirus, SARS-CoV-2, se compartió en línea el 12 de enero, los científicos han secuenciado y puesto a disposición, a través del repositorio de GISAID (Global Initiative on Sharing All Influenza and Covid-19 Data, gisaid.org) [5], más de 45,000 genomas virales de todo el mundo. Esta gran cantidad de datos ha permitido a los investigadores rastrear el origen de los brotes de SARS-CoV-2 en sus países y determinar cuándo se produjo la transmisión comunitaria. A continuación se muestra un captura de pantalla de la plataforma de GISAID mostrando la circulación del virus a nivel mundial.

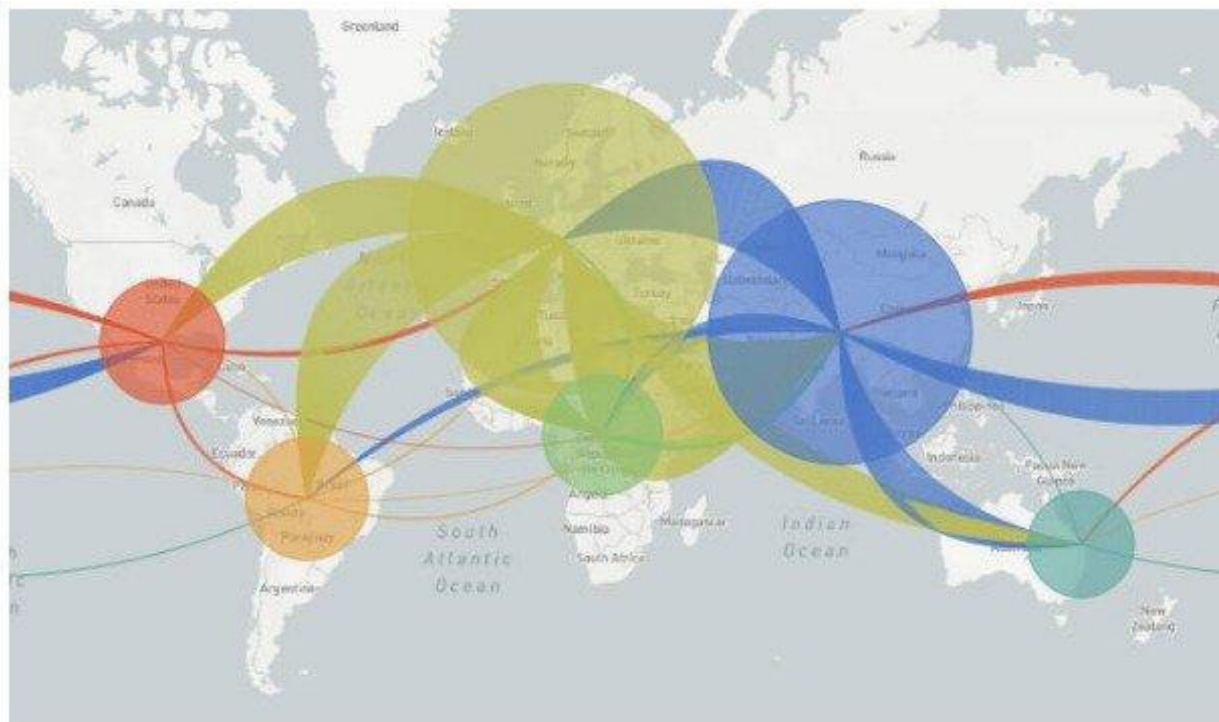


Figura 2: Circulación del coronavirus a nivel mundial. Toma de captura del repositorio de GISAID al 12 de junio de 2020.

Las primeras secuencias genómicas en Argentina

A principios del mes de abril, científicos y técnicos de la Administración Nacional de Laboratorios e Institutos de Salud (ANLIS) del Instituto Malbrán secuenciaron los primeros 3 genomas completos del SARS CoV-2 de pacientes infectados. Tiempo después, se conformó el Consorcio Argentino de Genómica de SARS-CoV-2 del cual forman parte los autores de este proyecto. En primera instancia se secuenciaron 26, pero se planea a corto plazo un muestreo en todo el país de aproximadamente 1000 genomas de SARS-CoV-2.

¿Cómo podemos ayudar a entender mejor el desarrollo de una pandemia desde la genómica?

Como comentamos anteriormente podemos estudiar la acumulación de mutaciones en los genomas de los aislamientos de pacientes separados temporal y geográficamente. Las mutaciones en el genoma viral se dan al azar y se conservan en las replications sucesivas del virus. Esto nos permite realizar comparaciones de dichas variantes para decidir qué secuencias genómicas se parecen más entre sí y por lo tanto “rastrear su origen”, o mejor dicho predecir a qué regiones se parecen las secuencias que circulan en nuestro país.

Tomemos el ejemplo de 3 genomas de coronavirus provenientes de pacientes de Argentina (Identificador de base de datos GISAID (<https://www.gisaid.org/>): 420598, 430795, 430817) y 4 genomas de países de diferentes regiones, Estados Unidos (USA, 437513), Países Bajos (461359), Brasil (427298), y la referencia proveniente de China, Wuhan (identificador del NCBI database NC_045512.2). Al analizar esos genomas podemos encontrar variantes (respecto del genoma de referencia de Wuhan) que sólo son compartidas por ciertas muestras (Tabla 1).

Argentina (420598)	Países Bajos (461359)	Argentina (430795)	USA (437513)	Argentina (430817)	Brasil (427298)	Wuhan (Ref.)	Posición
T	T	T	T	T	T	C	241
C	C	T	T	C	C	C	1052
G	G	G	G	A	G	G	2173
T	T	T	T	T	T	C	3037
C	C	T	T	T	T	T	10561
T	T	T	T	T	T	C	14408
T	T	C	C	C	C	C	15324
G	G	A	A	G	G	G	15760
C	T	C	C	C	C	C	23191
G	G	G	G	G	G	A	23403
G	G	T	T	G	G	G	25563
G	T	G	G	G	G	G	25598
G	G	G	T	G	G	G	26062
G	G	G	G	T	G	G	26416
T	T	T	T	C	C	T	28844
G	G	G	G	A	A	G	28881
G	G	G	G	C	C	G	28882
G	G	G	G	C	C	G	28883
T	T	T	T	C	C	T	29148

Tabla 1: Variantes presentes en tres genomas argentinos (420598, 430795 y 430817) y tres genomas filogenéticamente cercanos de tres regiones diferentes (Países Bajos, Estados Unidos y Brasil) con respecto al genoma de referencia de Wuhan. "Posición" indica la posición de la variante respecto al genoma de referencia. Referencia de colores: Blanco, variantes que comparten todas menos la referencia. Rojo claro, variante única de 437513 (USA). Rojo oscuro, variante que comparten únicamente las secuencias 437513 (Estados Unidos) y 430795 (Argentina). Azul claro, variante única de la secuencia 461359 (Países Bajos). Azul oscuro, variantes compartidas entre el genoma 430817 (Argentina) y 461359 (Países Bajos). Verde oscuro, variantes compartidas entre las secuencias 430817 (Argentina) y 427298 (Brasil). Amarillo claro, variantes únicas de 430817 (Argentina). Se resalta en negrita y con un recuadro las variantes compartidas. Toma de captura del repositorio de GISAID al 12 de junio de 2020.

En la Tabla 1 se observa que hay un vínculo genético entre las secuencias 437513 (USA) y 430795 (Argentina) dado que comparten las mismas variantes en las posiciones 1052, 15760 y 25563, que a su vez, no se encuentran presentes en las otras secuencias comparadas. La misma relación la podemos encontrar entre las secuencias 461359 (Países Bajos) y 420598 (comparten variantes en las posiciones 10561, 15324), y Brasil con 430817 (por las variantes en las posiciones 28844, 28881, 28882, 28883).

A su vez cabe destacar que las variantes presentes en las posiciones 241, 3037, 14408 y 23403 se encuentran presentes en todas las cepas estudiadas (aún siendo filogenéticamente distantes) lo que indicaría que estas mutaciones han sido adquiridas de manera temprana en la evolución viral. Por otro lado, se puede observar que no existen variantes (que no sean las cuatro adquiridas tempranamente), compartidas en los tres genomas argentinos analizados, lo que revela que las tres cepas tienen origen diferente (es decir entraron al país a través de diferentes eventos). El bajo número de variantes presentes únicamente en las cepas de nuestro territorio también nos da una idea

del poco tiempo transcurrido entre la entrada del virus al país y la toma de muestra en los pacientes de los cuales se obtuvieron estos genomas.

Reconstruyendo la filogenia

A partir de un análisis como el antes comentado se puede inferir un árbol filogenético para representar las relaciones evolutivas entre las cepas secuenciadas. En estos árboles, cada rama representa un genoma viral. La disponibilidad de las secuencias genómicas permite agrupar aquellas secuencias que tienen variantes en común, lo que nos da una idea de qué tan similares o qué tan relacionadas están unas de otras.

A continuación, vemos una ilustración (Figura 3) que representa el árbol filogenético de las secuencias analizadas en la Tabla 1. A la izquierda se encuentra el árbol y con círculos de colores las variantes que caracterizan a cada rama del árbol, esto es, qué variantes son las que crean la bifurcación en las ramas. A la derecha figuran las representaciones de las secuencias también con variantes que se muestran como círculos de colores. En ambos casos los colores respetan el análisis realizado en la Tabla 1. Podemos ver que las secuencias que comparten las mismas mutaciones se agrupan en ramas más cercanas el árbol. Cuanto mas cercanas las ramas del árbol más parecidas son las secuencias entre sí. Por ejemplo las secuencias 420596 (Argentina) y 461359 (Países Bajos) presentan ciertas variantes que comparten entre sí (azul oscuro) lo que las hace estar más cercanas en el árbol filogenético que el resto. A su vez la secuencia 461359 (Países Bajos) posee variantes que no comparte con la Argentina (420596) ni con el resto de las secuencias (azul claro) lo que indica que esta secuencia no es la misma que la de Argentina (420596) creando una bifurcación en el árbol filogenético. Se puede observar en el árbol que en dicha bifurcación se posa el círculo celeste claro, entendiéndose que dichas variantes son responsables de la bifurcación del árbol y de que dichas secuencias no sean idénticas.

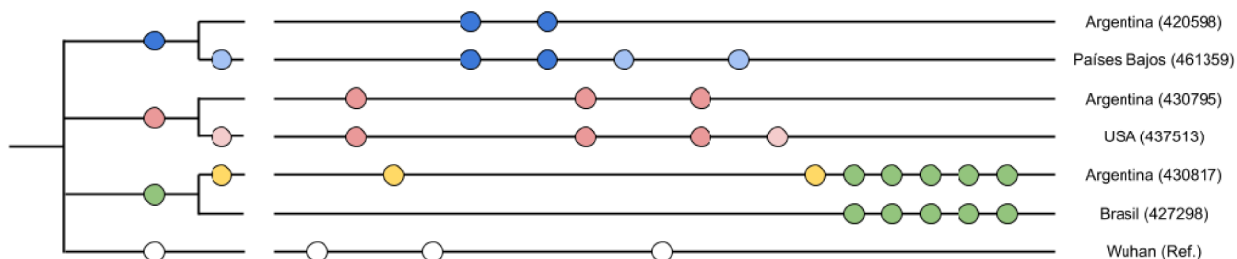


Figura 3: Árbol filogenético construido a partir de las secuencias de la Tabla 1 y sus variantes. La figura fue construida a partir de las secuencias argentinas 420598, 430795, 430817 y 4 genomas de países de diferentes regiones, Estados Unidos (USA, 437513), Países Bajos (461359), Brasil (427298), y la referencia proveniente de China, Wuhan. A la izquierda se encuentra un árbol filogenético, a la derecha una representación del genoma de las secuencias que conforman el árbol. Las variantes en cada secuencia se indican con círculos de colores tanto en el árbol como en las secuencias, respetando el análisis realizado en la Tabla 1.

En la actualidad la comunidad científica deposita los genomas secuenciados en la base de datos de GISAID. A partir de dichos genomas se realiza el análisis epidemiológico genómico en la plataforma Nextstrain (<https://nextstrain.org/ncov/global>) [6]. En dicha plataforma se visualiza un árbol filogenético construido a partir de 4718 genomas de SARS-CoV-2 provenientes de la base de datos GISAID.

En la Figura 4 se observa capturas de pantallas del árbol filogenético yendo desde una vista general hasta un enfoque particular de la secuencia argentina 42509. En éste último se puede observar la cercanía entre la secuencia argentina 425098 y la secuencia de Países Bajos antes mencionada.

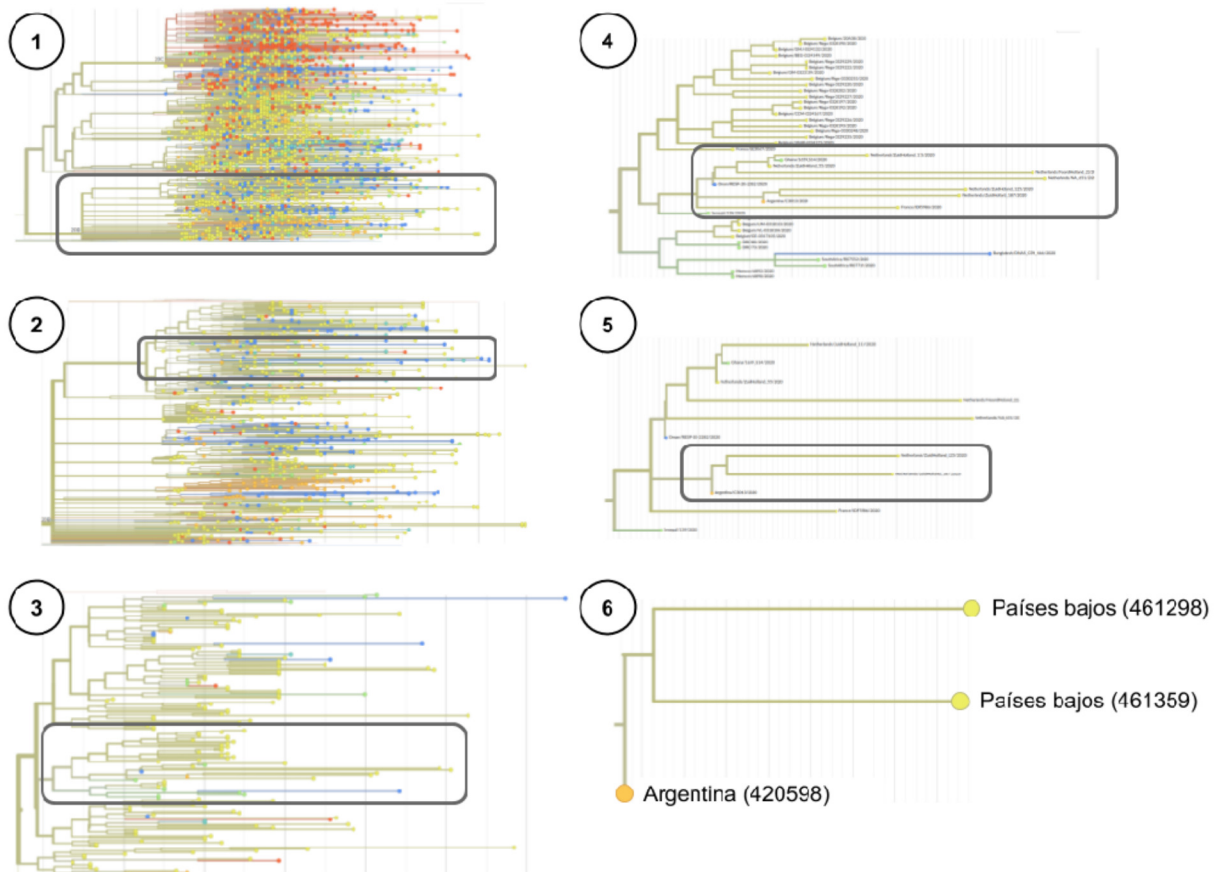


Figura 4: Capturas de pantalla tomadas recorriendo la plataforma de Nextstrain. Se observan distintos aumentos sucesivos de escala (zoom) del árbol filogenético de SARS-CoV-2, siendo 1 la base o raíz del árbol y 6 el aumento más grande (haciendo foco en la secuencia argentina 420598). Los colores de los nodos indican la procedencia de cada secuencia. A su vez el color de cada rama indica la procedencia mayoritaria de los nodos que contiene, siendo azul de Asia, turquesa de Oceanía, verde de África, amarillo de Europa, naranja de Sudamérica, y rojo de Norteamérica.

Por otra parte, la topología del árbol indica las relaciones filogenéticas de las ramas. Cuanto más próximas, más emparentadas. En este caso, la cercanía de la rama de Países Bajos y de Argentina indica un parentesco o relación filogenética muy cercano (Figura 4, recuadro 6). El nodo del árbol de donde se desprende tanto la secuencia de Argentina como la de Países Bajos es el ancestro común de ambas, un ancestro hipotético del cual evolucionaron ambas secuencias.

¿Qué sucede en nuestra región?

A los fines de facilitar el entendimiento de los parentescos filogenéticos de las secuencias se establecen sistemas de clasificación por linajes. En esencia, a partir de un análisis filogenético se asignan nombres a ciertas ramas. De este modo, al decir que una secuencia forma parte de un determinado linaje, es posible entender su ubicación en el árbol rápidamente y con qué otras secuencias está más emparentada.

Una manera de asignar linaje a una secuencia en particular de manera rápida es mediante el programa Pangolin (<https://pangolin.cog-uk.io/>). Este programa toma una secuencia a analizar, la incluye en un alineamiento de secuencias representativas de todos los linajes preestablecidos [7] y luego computa una filogenia utilizando un árbol inicial guía que es representativo de la filogenia de los linajes. Una vez obtenido un árbol definitivo, Pangolin determina el linaje de la secuencia en función de su ubicación en el árbol y del linaje al que pertenecen sus vecinos más próximos.

Al completar el análisis, Pangolin devuelve una tabla donde cada fila es una de las secuencias analizadas y las columnas corresponden al nombre del archivo donde estaba la secuencia, el nombre de la secuencia, el linaje asignado y los valores de soporte de ramas de Bootstrap [8] y SH-aLRT [9]. Estos dos últimos son estadísticos indicativos de la "credibilidad" de una rama del árbol.

Las secuencias del genoma de SARS-CoV-2 obtenidas a partir de individuos infectados de distintos países han sido clasificadas en dos linajes principales (denominados con letras A y B) y varios linajes internos (A1-A5 y sus subgrupos, o B1-B8 y sus subgrupos) de acuerdo con cambios nucleotídicos y su agrupamiento filogenético [7]. En esencia, estos linajes constituyen grupos monofiléticos definidos a partir de una filogenia realizada con una serie de secuencias representativas de la diversidad viral a nivel mundial. Ambos linajes principales presentan amplia distribución mundial, aunque el linaje B reúne a la mayor parte de las secuencias de circulación actual.

A continuación se muestra una figura donde a la izquierda se encuentra un árbol filogenético construido a partir del alineamiento múltiple de 375 secuencias aisladas de pacientes de países de Latinoamérica (GISAID), incluyendo secuencias argentinas, donde a su vez se indica el linaje a la cual corresponde cada secuencia. A la derecha se indica la procedencia geográfica donde fue obtenida cada una de las secuencias.

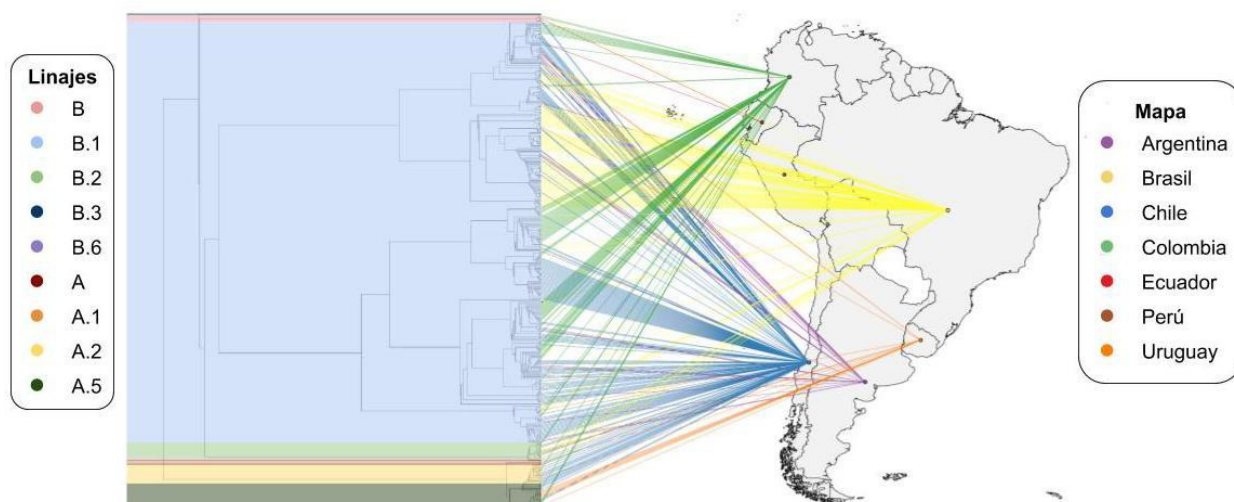


Figura 5: Árbol Filogenético de SARS-CoV-2 en Sudamérica. Las secuencias y coordenadas geográficas fueron obtenidas a partir de la metadata disponible en la base de datos GISAID a la fecha 12 de Junio, 2020. El árbol filogenético fue creado con IQtree (<http://www.iqtree.org/>) e integrado con el mapa a partir la biblioteca de R, phytools (<http://www.phytools.org/>). Cada secuencia está conectada por una línea coloreada con su país de procedencia (Referencia, cuadro izquierdo Mapa). Se analizó el linaje de las secuencias utilizando el programa Pangolin (<https://pangolin.cog-uk.io/>) y se las coloreó sobre las ramas del árbol filogenético (Referencia, cuadro derecho Linajes).

En la Figura 5 se puede observar qué linaje le fue asignado a cada una de las secuencias del árbol y de esta manera, teniendo en cuenta la temporalidad de la pandemia, nos permite hacer inferencias acerca del origen de los diferentes aislamientos. En el caso de las secuencias chilenas, podemos observar asignaciones a distintos linajes, incluidos algunos linajes "A.X" (circulantes en Reino Unido, EE.UU, España o Australia). Se pueden observar hasta 8 clusters de secuencias chilenas asignados a diferentes linajes, lo que podría indicar hasta 8 introducciones diferentes del virus generando clusters independientes de circulación local. No obstante, es de considerar que existen otras posibilidades para el caso chileno, como que hayan habido varias introducciones más del virus que no se puedan ver en la filogenia por falta de secuencias. También es importante tener en cuenta que la correlación entre países y linajes no se puede inferir de manera directa. Usualmente un mismo país presenta más de un linaje circulando, aunque suele haber un linaje preponderante.

En Argentina actualmente (junio de 2020) existen 29 secuencias de SARS-CoV-2 provenientes del AMBA, la ciudad de Bariloche y la ciudad de Bahía Blanca. En particular, las secuencias argentinas se asociaron, al menos, con cinco linajes internos: muchas corresponden al linaje B.1 (13), que es uno de los principales causantes de los brotes en Europa y América del Norte (<https://github.com/hCoV-2019/lineages/>), y en los otros casos se pudieron identificar linajes más específicos que no se detallan en la Figura 5, como B.1.1 (5), B.1.3 (3), B.1.5 (7) y B.1.27 (1).

¿Por qué es importante el estudio de las secuencias autóctonas de SARS-CoV-2?

Como se desprende de todo lo dicho anteriormente la secuenciación de genomas es una herramienta fundamental para analizar la entrada y circulación del virus. Este conocimiento, sin embargo, no solo nos permite establecer políticas de vigilancia sino adecuar la administración de futuras vacunas y antivirales para combatir cepas que circulan en nuestro país. Muchas investigaciones para el desarrollo de antivirales se basan en bloquear farmacológicamente la actividad de la proteína Mpro, esencial para la replicación del virus, y otras en la inhibición de la polimerasa viral (RdRp). Diferencias en el genoma viral pueden resultar en diferentes instrucciones de cómo fabricar estas proteínas y a su vez en proteínas resistentes a la terapia. De esta manera, conocer los diferentes genomas de coronavirus nos permite predecir variantes en estas proteínas, lo que es esencial para prever la eficacia de una posible terapia.

Estas mutaciones también nos permiten hacer distintos análisis acerca del diagnóstico y la virulencia del virus. Por ejemplo se puede verificar si algunas de las variantes circulantes en nuestro país se encuentran comprendidas en las regiones de apareamiento de los cebadores ("primers") utilizados en los kits de diagnóstico por reacción en cadena de la polimerasa (PCR). En caso de que esto ocurra podría complicar el diagnóstico.

Otra variante que merece ser destacada por sus impactos en la infectividad de SARS-CoV-2 es la mutante D614G en la proteína Spike (S). El cambio de ácido aspártico (D) por una glicina (G) podría impactar en la posibilidad de transmisión

viral pero no en la gravedad del cuadro clínico. Resultados experimentales *in vitro* han mostrado que la nueva cepa S^{G614} infecta con mayor eficiencia que la cepa S^{D614} y que se correlacionarían con los datos epidemiológicos [10][11]. Sin embargo, no se ha demostrado aún su relevancia *in vivo*. Estas mutaciones son características del linaje B y circulan con una muy alta prevalencia a nivel mundial, por lo que su presencia en Argentina confirma la persistencia de las mutaciones en el linaje en su introducción al país.

Perspectivas

Constituido por más de 100 investigadores de 30 instituciones de todo el país y del cual forman parte los autores de este trabajo, se conformó el Consorcio Argentino de Genómica de SARS-CoV-2, dirigido por la Dra. Mariana Viegas del Hospital Gutiérrez. Este Consorcio diseñó el Proyecto Argentino Interinstitucional de genómica de SARS-CoV-2 (PAIS, <http://pais.qb.fcen.uba.ar/>), financiado, a través del subsidio FONARSEC IP COVID-19 N° 247, por la Agencia Nacional de la Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación del Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación, Argentina. El objetivo de PAIS es el análisis de la trayectoria evolutiva de las cepas del SARS-CoV-2 que circulan en Argentina para estudiar su origen y dispersión en el país, en el contexto de las cepas mundiales, como así también analizar las mutaciones que pudieran afectar el diagnóstico, la transmisión y la virulencia del virus.

Para cumplir el objetivo se planea a corto plazo un muestreo en todo el país de aproximadamente 1000 genomas de SARS-CoV-2, para obtener sus secuencias genómicas, caracterizarlas y predecir el origen y esparcimiento de la pandemia sobre nuestro territorio. Así y a modo de síntesis, el contar con un número importante de secuencias genómicas de los virus que circulan en nuestro país resulta fundamental para pensar políticas de salud pública exitosas en el marco de la pandemia de SARS-CoV-2.

Referencias:

1. Wu A, Peng Y, Huang B, Ding X, Wang X, Niu P, et al. (2020) Genome composition and divergence of the novel coronavirus (2019-nCoV) originating in China. *Cell Host Microbe* 27: 325–328.
2. Dagur HS (2020) Genome organization of Covid-19 and emerging severe acute respiratory syndrome Covid-19 Outbreak: A Pandemic. *Eurasian Journal of Medicine and Oncology* doi:10.14744/ejmo.2020.96781
3. Chen Y, Liu Q, Guo D (2018) Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis. *Journal of Medical Virology* 92: 418–423.
4. Sosa EJ, Burguener G, Lanzarotti E, Defelipe L, Radusky L, Pardo AM, et al. (2018) Target-Pathogen: a structural bioinformatic approach to prioritize drug targets in pathogens. *Nucleic Acids Research* 46: D413–D418.
5. Shu Y, McCauley J (2017) GISAID: Global initiative on sharing all influenza data - from vision to reality. *Euro Surveillance* 22. doi:10.2807/1560-7917.ES.2017.22.13.30494
6. Hadfield J, Megill C, Bell SM, Huddleston J, Potter B, Callender C, et al. (2018) Nextstrain: real-time tracking of pathogen evolution. *Bioinformatics* 34: 4121–4123.
7. Rambaut A, Holmes EC, Hill V, O'Toole Á, McCrone JT, Ruis C, et al. (2020) A dynamic nomenclature proposal for SARS-CoV-2 to assist genomic epidemiology. doi:10.1101/2020.04.17.046086
8. Holmes S (2003) Bootstrapping phylogenetic trees: Theory and Methods. *Statistical Science* 241–255. doi:10.1214/ss/1063994979
9. Anisimova M, Gascuel O (2006) Approximate likelihood-ratio test for branches: A fast, accurate, and powerful alternative. *Systematic Biology* 539–552. doi:10.1080/10635150600755453
10. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W, et al. (2020) Spike mutation pipeline reveals the emergence of a more transmissible form of SARS-CoV-2. doi:10.1101/2020.04.29.069054
11. Zhang L, Jackson CB, Mou H, Ojha A, Rangarajan ES, Izard T, et al. (2020) The D614G mutation in the SARS-CoV-2 spike protein reduces S1 shedding and increases infectivity. doi:10.1101/2020.06.12.148726

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 2, año 19, Agosto 2020

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Derivados de sales de arildiazonio

Miguel Morales Toyo

Facultad de Ciencias y Humanidades, Escuela de Educación, Universidad Central del Este (UCE), Avenida Francisco Alberto Caamaño Deñó, San Pedro de Macorís, República Dominicana.

Laboratorio de Electrónica Molecular (LEM), Departamento de Química, Facultad Experimental de Ciencias, La Universidad del Zulia, Ap. 526, Grano de Oro, Módulo No. 2, Maracaibo, Estado Zulia, República Bolivariana de Venezuela.

mamorales@uce.edu.do

Recibido: 07/10/2019 - Aceptado: 11/03/2020

[Versión para imprimir](#) 

Resumen

Las sales de arildiazonio son compuestos altamente reactivos que pueden obtenerse a través de diferentes metodologías, estas sales han sido ampliamente utilizadas como intermediarios claves para la preparación de muchos compuestos de importancia industrial y farmacéutica, un ejemplo de ello, el resveratrol. En este sentido presentaremos una breve descripción de diferentes técnicas y tipos de reacciones para la obtención de sales de arildiazonio como intermediarios para la síntesis de diversos derivados.

Palabras clave: Derivados, sales de arildiazonio, reacciones, síntesis.

Derivatives of Aryldiazonium salts

Summary

Aryldiazonium salts are highly reactive compounds that can be obtained through different methodologies, these salts have been widely used as key intermediates for the preparation of many compounds of industrial and pharmaceutical importance, as is the case of resveratrol. In this sense, we will present a brief description of different techniques and reaction types for obtaining aryldiazonium salts as intermediates for the synthesis of several derivatives.

Keywords: Derivatives, aryldiazonium salts, reactions, synthesis.

Introducción

Cuando una amina primaria aromática es tratada con ácido nitroso en una solución fría se obtiene un compuesto intermediario inestable denominado sal de arildiazonio (ArN_2^+), esta clase de intermediario ha sido utilizada principalmente para la síntesis de colorantes o azo compuestos [1]. Sin embargo, sus aplicaciones se han extendido como sustratos o intermediarios para diferentes reacciones que van desde sus reducciones hasta acoplamientos cruzados, y más recientemente se han empleado para la modificación de superficies de biopolímeros, nanomateriales, resinas, así como para la obtención de nuevos materiales y su aplicación como sensores por citar algunos ejemplos.[2–4,5] A continuación describiremos la preparación de sales de arildiazonio, así como los métodos empleados en las que dichas sales han sido utilizadas como intermediarios de síntesis.

Métodos de preparación de sales de arildiazonio

El método más común para la preparación de sales de diazonio es la generación *in situ* de ácido nitroso, HNO_2 , que se obtiene al hacer reaccionar una amina clorhidrato con NaNO_2 (**1**) en medio acuoso y a bajas temperaturas (alrededor de los 0°C); para el caso en que las sales de arildiazonio presentan baja solubilidad

en medio acuoso, estas pueden prepararse con ácido nitrosulfúrico (HSO_4NO)(2), este último se obtiene al mezclar H_2SO_4 con NaNO_2 el procedimiento se lleva a cabo con previa disolución de la amina en H_2SO_4 y posterior adición de NaNO_2 . [1, 2, 6–8] Las sales de arildiazonio también pueden prepararse bajo la forma de tetrafluoroboratos (3), empleando BF_3 , OEt_2 y *tert*-BuONO, por citar algunos ejemplos. [3]

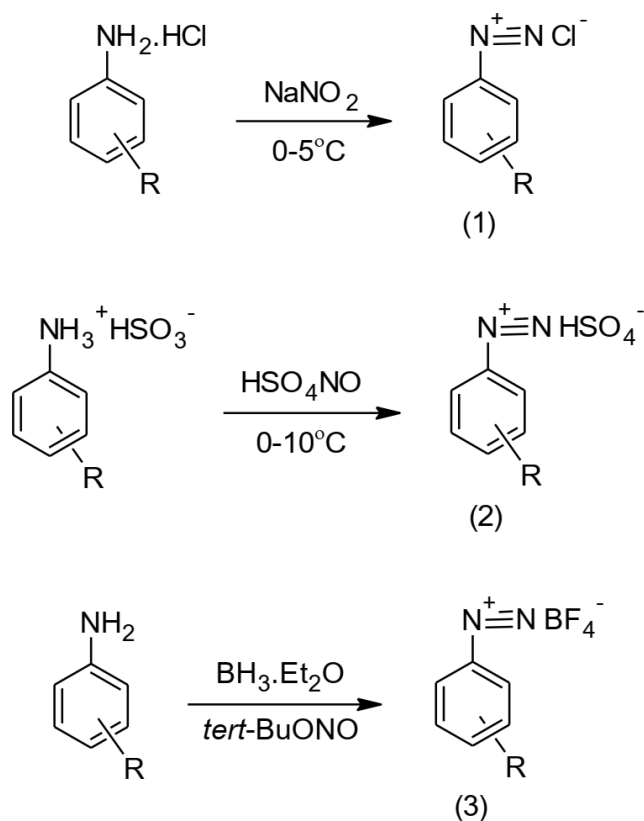


Figura 1: Síntesis de sales de diazonio.

Reducción

Las sales de arildiazonio pueden reducirse en presencia de $\text{H}_2\text{SO}_3(\text{ac})$ o Na_2SO_3 para generar las correspondientes sulfonas (4), que posteriormente son hidrolizadas con HCl concentrado y así obtenerlos respectivos clorhidratos de fenilhidracina (5). El H_2SO_3 es generado *in situ* cuando se satura agua a $0-5^\circ\text{C}$ con SO_2 . [6, 7].

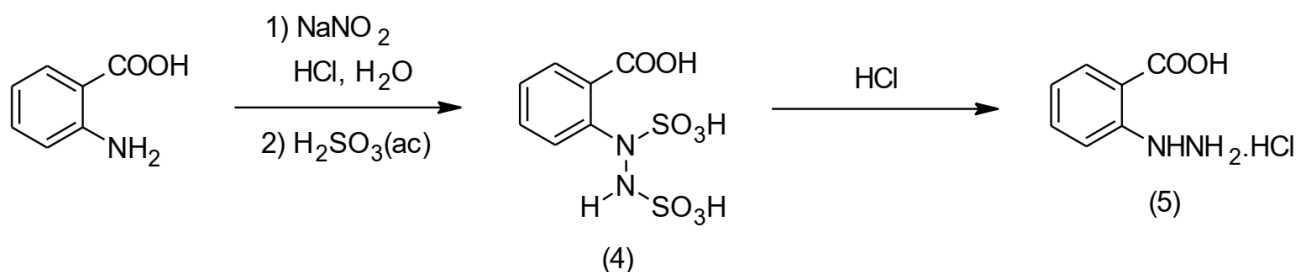


Figura 2: Reducción de sales de diazonio para la obtención de derivados de fenilhidracina clorhidrato.

Nuestro grupo de investigación está particularmente interesado en la obtención de derivados de clorhidratos de fenilhidracina para ser empleados como intermediarios en la síntesis de derivados de fenilhidrazonas, compuestos que presentan un amplio espectro de actividades biológicas. [9–12]

Sustitución Nucleofílica

Ambrose y col. utilizaron como intermediario de reacción a la sal de diazonio del p-aminofenil- α -D-galactopiranososa empleando ácido trifluoroacético para generar el ácido nitroso (6). Posteriormente llevaron a

cabo la sustitución nucleofílica del grupo azo por una azida, utilizando NaN_3 como agente nucleofílico a temperatura ambiente, el p-azidofenil- α -D-galactopiranososa (**7**) se obtuvo con un rendimiento del 77 %.[13, 14]

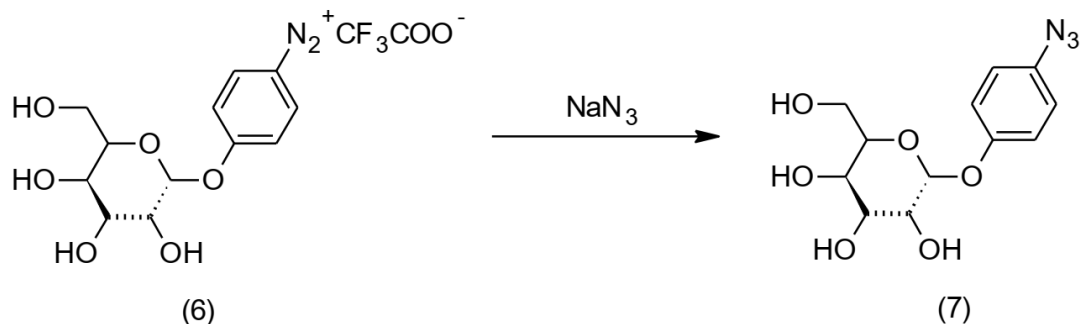


Figura 3: Reacción de sustitución nucleofílica de un grupo azo.

Arilación de Meerwein

Karminski-Zamola y col., sintetizaron una serie de derivados de arilfuranos y ariltiofenos (**8**) a través del acoplamiento de la sal del p-carboxi arenodiazonio (**9**) y sustratos de furano y tiofeno (**10**) en presencia de $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. Todo esto para ser empleados como intermediarios para la obtención de derivados de tipo bis-Benzotiazolil [15].

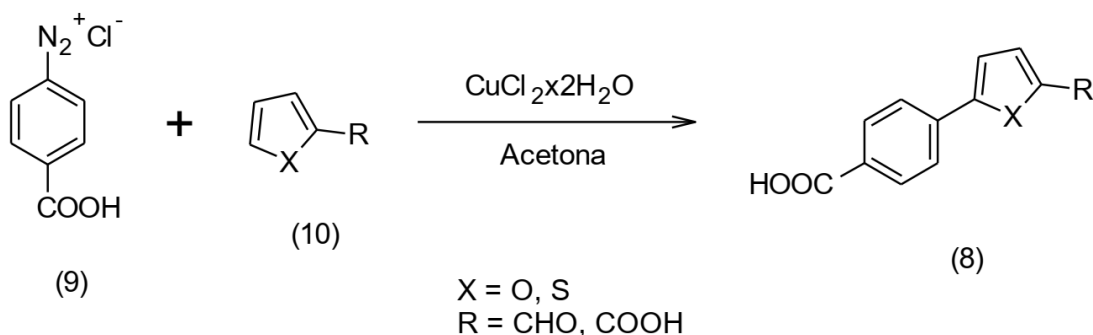


Figura 4: Síntesis de derivados de arilfuranos y ariltiofenos.

Acoplamientos

Darwish y col., encontraron que al acoplar la base nitrogenada 2-(bencilsulfanil)-7H-purin-6-ona (**11**) con diferentes sales de arildiazonio se obtienen compuestos 8-arilhidrazono con rendimientos moderados (30-65%) y en forma de tautómeros, también determinaron espectroscópicamente que los isómero arilhidrazona (**12**) son las especies que predomina frente a los azo (**13**) en dichos equilibrios tautoméricos [16].

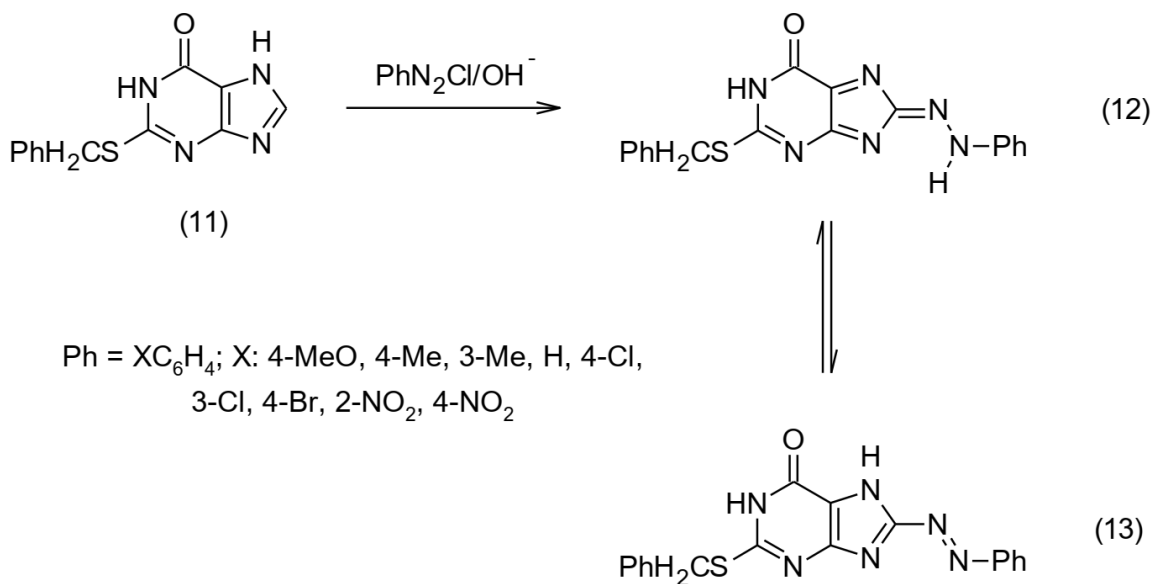


Figura 5: Acoplamiento de sales de arildiazonio con bases nitrogenadas.

Acoplamiento con metilenos activos

Los azo compuestos son colorantes sintéticos de mucha importancia, sin embargo esta clase de compuesto son considerados potenciales carcinógenos. Por otro lado, los colorantes hidrazona son considerados no mutagénicos y no genotóxicos, en este sentido Rollas y col., reportaron el acoplamiento del N-(2,4-dimetilfenil)-3-oxobutamida (**14**) que posee un grupo metileno activo con diferentes sales de diazonio en presencia de acetato de sodio.[17–19]

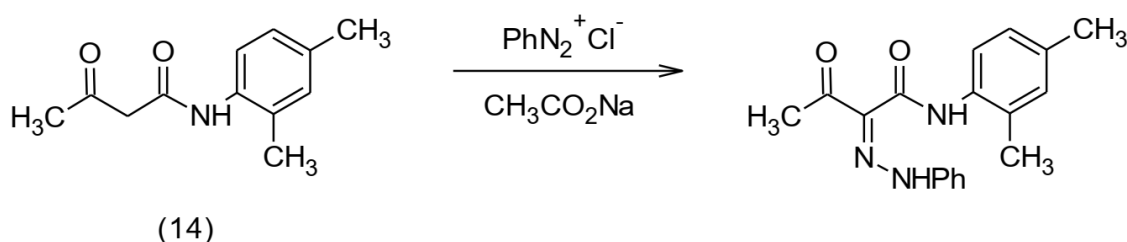


Figura 6: Acoplamiento de sales de arildiazonio con metilenos activos.

Arilación de Heck-Matsuda

Correira y col., llevaron a cabo la síntesis regio y estereoselectiva del trans-3,5-dimetoxi-4'-acetoxi-estilbeno (**15**) evidencia del isómero cis como intermediario para la síntesis del agente anticáncer resveratrol en alto rendimiento, al acoplar 3,4-dimetoxibencenodiazonio tetrafluoroborato (**16**) con el 4-acetoxi-estireno (**17**), catalizada con un 4 mol % de Pd(OAc)₂ en atmósfera de CO [20, 21].

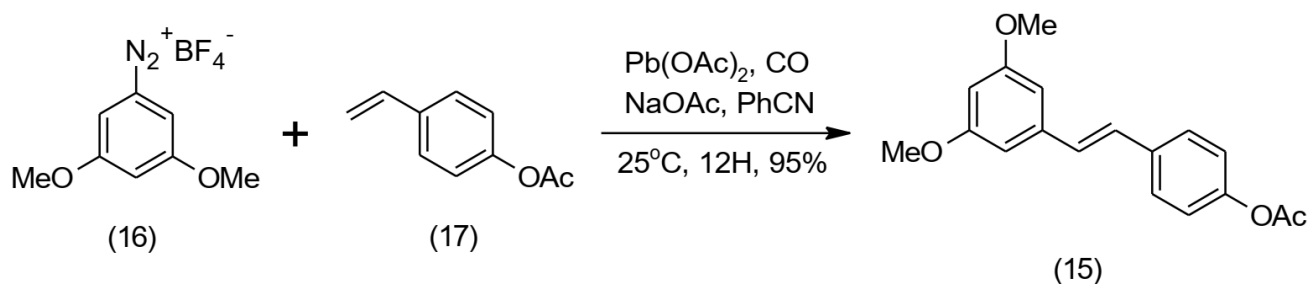


Figura 7: Síntesis de trans-estilbenos.

Arilación Reductiva

Esta es una modificación de la reacción de Arilación de Meerwein en el que no se requieren metales de transición para el proceso de Arilación y reducción para la obtención de α -arilacetonas (18) utilizando sales de tetrafluoroborato de diazonio (19) y acetato de isoprenilo. Esta clase de compuestos pueden obtenerse a gran escala, en buenos rendimientos y empleando reactivos de bajo costo y de baja toxicidad [22].

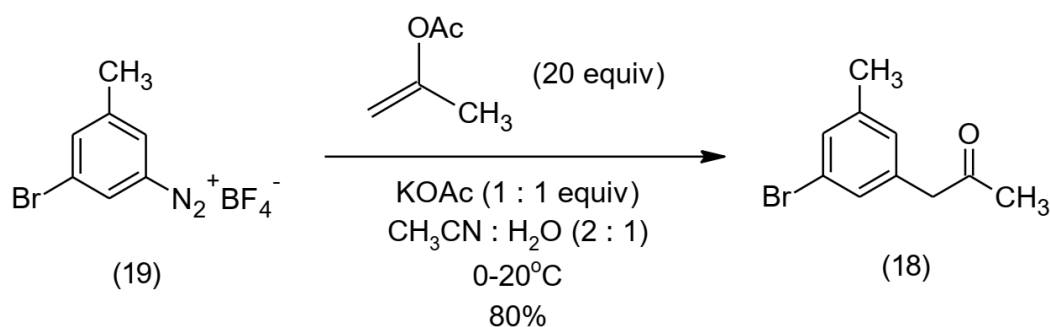


Figura 8: Síntesis de α -arilacetonas por arilación reductiva de sales de arildiazonio.

Conclusiones

La presencia del grupo *dialo* en las sales de arildiazonio los hace sensibles a los reactivos nucleófilos, reaccionando con ellos generalmente de manera fácil debido a su alta reactividad. Esta propiedad útil implica que las sales de arildiazonio son valiosas como "componentes básicos" en la síntesis de una amplia gama de compuestos, tales como colorantes y fármacos con propiedades biológicas como el anticancerígeno. Por lo tanto, la síntesis de nuevos derivados de sales de arildiazonio es muy necesaria y puede traer el descubrimiento de nuevas sustancias con propiedades interesantes.

Referencias:

1. Tuuttila T, Lipsonen J, Huuskonen J, and Rissanen K. (2009) Chiral donor- π -acceptor azobenzene dyes. *Dye Pigment* 80: 34–40 DOI: 10.1016/j.dyepig.2008.04.007.
2. Roglans A, Pla-Quintana A, and Moreno-Mañas M. (2006) Diazonium salts as substrates in palladium-catalyzed cross-coupling reactions. *Chemical Reviews* 106: 4622–4643 DOI: 10.1021/cr0509861.
3. Schroen M, and Bräse S. (2005) Polymer-bound diazonium salts for the synthesis of diazoacetic esters. *Tetrahedron* 61: 12186–12192 DOI: 10.1016/j.tet.2005.09.145.
4. Radulescu MC, Chira A, Radulescu M, Bucur B, Bucur MP, and Radu GL. (2010) Determination of silver(I) by differential pulse voltammetry using a glassy carbon electrode modified with synthesized N-(2-aminoethyl)-4,4'-bipyridine. *Sensors* 10: 11340–11351 DOI: 10.3390/s101211340.
5. Mahouche-Chergui S, Gam-Derouich S, Mangeney C, and Chehimi MM. (2011) Aryl diazonium salts: a new class of coupling agents for bonding polymers, biomacromolecules and nanoparticles to surfaces. *Chemical Society Reviews* 40: 4143 DOI: 10.1039/c0cs00179a.
6. Stephenson E. (1949) Indazole. *Organic Synthesis* 29: 54 DOI: 10.15227/orgsyn.029.0054.
7. Coleman G. (1922) Phenylhydrazine. *Organic Syntheses* 2: 71 DOI: 10.15227/orgsyn.002.0071.
8. Naik SJ, and Halkar UP. (2005) Synthesis and application of novel 4,5,6,7-tetrahydrobenzothiazole based azo disperse dyes. *Arkivoc* 2005: 141–149 DOI: http://dx.doi.org/10.3998/ark.5550190.0006.d12.
9. Restrepo J, Glidewell C, Cubillán N, Alvarado Y, Dege N, and Morales-Toyo M. (2019) Synthesis, crystal structure, and non-covalent interactions in ethyl 4-hydrazinobenzoate hydrochloride. *Journal of Molecular Structure* 1177: 363–370 DOI: 10.1016/j.molstruc.2018.09.056.
10. Morales-Toyo M, Cubillán N, Glidewell C, Seijas L, Boscan-Melean K, and Restrepo J. (2019) Synthesis, crystal structure, and non-covalent interactions in 4-hydrazinobenzoic acid hydrochloride. *Journal of Molecular Structure* DOI: https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.127154.
11. Morales-Toyo M, Alvarado YJ, Restrepo J, Seijas L, Atencio R, and Bruno-Colmenarez J. (2013) Synthesis, Crystal Structure Analysis, Small Cluster Geometries and Energy Study of (E)-Ethyl-4-(2-(thiophen-2-ylmethylene)hydrazinyl)benzoate. *Journal Chemical Crystallography* 43: 544–549 DOI: 10.1007/s10870-013-0455-5.
12. Morales-Toyo M, Glidewell C, Bruno-Colmenarez J, Cubillán N, Sánchez-Colls R, Alvarado Y, et al. (2019) Synthesis of (E)-Ethyl-4-(2-(furan-2-ylmethylene)hydrazinyl)benzoate, crystal structure, and studies of its interactions with human serum albumin by spectroscopic fluorescence and molecular docking methods. *Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 216: 375–384 DOI: 10.1016/j.saa.2019.03.028.
13. Ambroise Y, Mioskowski C, Leblanc G, and Rousseau B. (2000) Syntheses and properties of photoactivatable sugar derivatives designed to probe the sugar-binding site of melibiose permease. *Bioorganic Medicinal Chemistry Letters* 10: 1125–1127 DOI: 10.1016/S0960-894X(00)00180-3.
14. Teimouri A, Chermahini AN, and Emami M. (2008) Synthesis, spectroscopic characterization and DFT calculations on. 2008: 172–187 DOI: http://dx.doi.org/10.3998/ark.5550190.0009.c19.
15. Racanè L, Tralić-Kulenović V, Boykin DW, and Karminski-Zamola G. (2003) Synthesis of new cyano-substituted bis-benzothiazolyl arylfurans and arylthiophenes. *Molecules* 8: 342–349 DOI: 10.3390/80300342.
16. Darwish ES, Mosselhi MA, Altalbawy FM, and Saad HA. (2011) Synthesis, acidity constants and tautomeric structure of the diazonium coupling products of 2-(benzylsulfanyl)-7H-purin-6-one in its ground and excited states.

17. **Ça M, Rollas S, Küçükgülzel ŞG, and Koçyi B.** (2008) Synthesis and structure elucidation of hydrazones derived from N - (2 , 4-dimethylphenyl) -3-oxobutanamide. *Arkivoc* 2008: 188–194 DOI: <http://dx.doi.org/10.3998/ark.5550190.0009.c20>.

18. **Rollas S, and Küçükgülzel ŞG.** (2007) Biological activities of hydrazone derivatives. *Molecules* 12: 1910–1939 DOI: 10.3390/12081910.

19. **Mohamed A. Saleh, Mohamed F. Abdel-Megeed, Mohamed A. Abdo A-BMS.** (2003) *Molecules* 2003 , 8 , 363-373. 8: 363–373 DOI: 10.3390/80400363.

20. **Moro AV, Cardoso FSP, and Correia CRD.** (2008) Heck arylation of styrenes with arenediazonium salts: short, efficient, and stereoselective synthesis of resveratrol, DMU-212, and analogues. *Tetrahedron Letters*. 49: 5668–5671 DOI: 10.1016/j.tetlet.2008.07.087.

21. **Taylor JG, and Correia CRD.** (2011) Stereoselective Synthesis of Unsymmetrical β,β -Diarylacrylates by a Heck-Matsuda Reaction: Versatile Building Blocks for Asymmetric Synthesis of β,β -Diphenylpropanoates, 3-Aryl-indole, and 4-Aryl-3,4-dihydro-quinolin-2-one and Formal Synthesis of (-)-Inda. *Journal of Organic Chemistry* 76: 857–869 DOI: 10.1021/jo102134v.

22. **Molinario C, Mowat J, Gosselin F, O'Shea PD, Marcoux J-F, Angelaud R, et al.** (2007) A practical synthesis of alpha-aryl methyl ketones via a transition-metal-free Meerwein arylation. *Journal of Organic Chemistry* 72: 1856–1858 DOI: 10.1021/jo062483g.

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 2, año 19, Agosto 2020

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar

Obtención de un derivado semisintético de la curcumina aislada de su fuente natural

Eugenio Torres Rodríguez, Yurién Mojena Guerra, Quirino Arias Cedeño, Robinson Hermosilla Espinosa

Centro de Estudios de Química Aplicada. Universidad de Granma. Cuba

etorresrodriguez@udg.co.cu

Recibido: 17/01/2020 - Aceptado: 12/03/2020

[Versión para imprimir](#) 

Resumen

La curcumina es un fitoquímico aislado de rizomas de *Curcuma longa L.* con comprobada actividad antitumoral y quimioprotectora, sin embargo, la baja solubilidad de esta biomolécula en los fluidos biológicos ha limitado los estudios farmacológicos. La estructura química de la curcumina permite realizar diferentes tipos de reacciones, entre ellas, la O y C- alquilación. El empleo de 1,2-dibromoetano como agente alquilante en relación 1:1 respecto a la curcumina, carbonato de potasio como base y bromuro de tetrabutilamonio como catalizador de transferencia de fase, permitieron obtener un 4,4-ciclopropilderivado de la curcumina en medio acuoso con potencialidades farmacológicas. El compuesto obtenido fue debidamente caracterizado mediante métodos espectroscópicos y espectrométricos.

Palabras clave: *Curcuma longa L.*, curcumina, 4,4-ciclopropilderivado

Summary

Curcumin is a phytochemical isolated from rhizomes of *Curcuma longa L.* with proven antitumor and chemoprotective activity, however, the low solubility of this biomolecule in biological fluids has limited pharmacological studies. The chemical structure of curcumin allows different types of reactions, including O and C-alkylation. The use of 1,2-dibromoethane as an alkylating agent in a 1:1 ratio with respect to curcumin, potassium carbonate as a base and tetrabutylammonium bromide as a phase transfer catalyst, allowed to obtain a 4,4-cyclopropilderivative of curcumin in aqueous medium with pharmacological potentials. The obtained compound was thoroughly characterized by spectroscopic and spectrometric methods.

Keywords: *Curcuma longa L.*, curcumin, 4,4-cyclopropilderivative.

Introducción

La curcumina (5-hidroxi-1,7-bis(4-hidroxi-3-metoxifenil)hepta-1,4,6-trien-3-ona) es un pigmento de color naranja aislado de rizomas de *Curcuma longa L.* (Figura 1), ampliamente utilizado como aditivo alimentario [1].

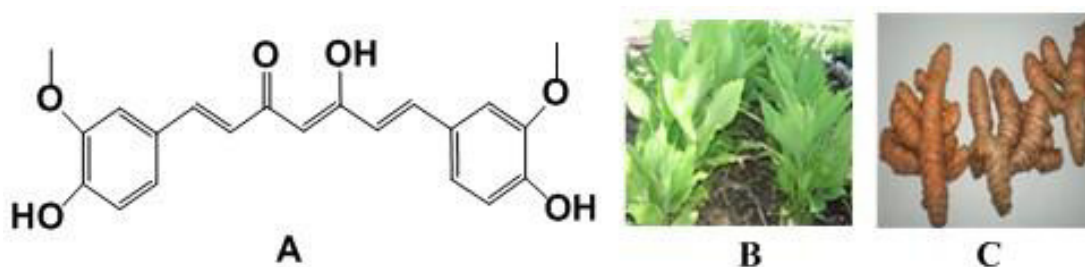


Figura 1: . Curcumina (A), *Curcuma longa L.* (B) y rizomas de la planta (C).

La curcumina se ha sometido a numerosos estudios como anticancerígeno debido a su excelente actividad antitumoral y quimioprotectora [2]. Muchos de los ensayos se han visto limitados por la escasa solubilidad de la molécula en los fluidos biológicos. Intensas investigaciones se han emprendido para modificar su estructura e incrementar su absorción y potencia, manteniendo la baja toxicidad de este producto natural [3–5].

La importancia de los derivados del ciclopropano en estudios biológicos ha sido reconocida debido a su habilidad para desarrollar variedad de reacciones de apertura de anillo en presencia de electrófilos, nucleófilos y radicales[6–9]. La estructura de la curcumina permite desarrollar reacciones de ciclopropanación en el átomo de carbono central(C-4) de la cadena carbonada y de esta forma introducir el potencialmente bioactivo grupo ciclopropil [3, 10, 11].

En este trabajo se reporta la obtención y caracterización de un ciclopropil derivado de la curcumina extraída de rizomas de *Curcuma longa L*, con potencial actividad biológica.

Materiales y métodos

El trabajo experimental se desarrolló en el laboratorio de Productos Naturales de la Universidad de Granma, Cuba; la caracterización estructural se realizó en la Universidad de Rostock, Alemania. Los reactivos y disolventes empleados en el trabajo experimental fueron de calidad “puros” o “analíticos” provenientes de las firmas Merck y Sigma-Aldrich. El curso de las reacciones se monitoreó por cromatografía de capa delgada (CCD) en cromatofolios (Al) de gel de sílice 60 F254 con espesor de capa 0,2 mm (Merck). Los espectros de resonancia magnética nuclear (RMN-¹H a 300 MHz y RMN-¹³C a 75,46 MHz) fueron obtenidos en equipos AC 250 y ARX 30 a 20°C y se utilizaron como disolventes dimetilsulfóxido deuterado (DMSO-d₆) y cloroformo deuterado (CDCl₃). Los espectros de masas de alta resolución (EMAR) se registraron en un espectrómetro INTECTRA GmbH, modelo AMD-402/3, mediante las técnicas de impacto ionización química (IQ) con isobutano.

La identificación de *Curcuma longa L*, se efectuó por especialistas del jardín botánico Copainicú. La extracción de curcumina se realizó, a partir de rizomas de *Curcuma longa L*. que previamente fueron sometidos a un proceso de hidrodestilación para separar los aceites esenciales, la masa vegetal se trató con metanol en un baño ultrasónico (SB-3200TD) de procedencia China, la mezcla fue sometida a ultrasonido durante dos horas. La disolución obtenida fue concentrada hasta un cuarto del volumen y tratada con acetato de etilo, obteniéndose un precipitado naranja constituido por una mezcla de curcuminoides. Mediante cromatografía de columna (tolueno-acetato de etilo 5:1) fue posible aislar la curcumina.

Métodos de síntesis:

1,7-bis(4-(2-bromoetoxi)-3-metoxifenil)-5-hidroxihepta-1,4,6-trien-3-ona (II).

La curcumina 1 mmol (0,368 g) fue mezclada con K₂CO₃ 2 mmol (0,276 g) en acetona (20 mL). La mezcla de reacción fue refluada durante 1 h a 40 °C. Seguidamente fue añadido 1,2- dibromoetano 2 mmol (0,372 g), la mezcla resultante se refluó durante 1 h a 40 °C. La cromatografía de capa fina permitió determinar el fin de la reacción. Luego se añadieron 10 mL de agua y 20 mL de CH₂Cl₂, la fase orgánica fue separada y la fase acuosa se lavó con CH₂Cl₂ (3 x 10 mL). La mezcla de las fases orgánicas se secó con Na₂SO₄ anhidro y se concentró. El producto final se purificó mediante cromatografía de columna (Éter de petróleo- acetato de etilo 15:1).

4,4-ciclopropil-bis(3-(4-(2-bromoetoxi)-3-metoxifenil)-prop-2-en-1-ona III.

1,0 mmol de bromuro de tetrabutilamonio (BTBA) fue añadido a una mezcla de heptatrienona (10 mmol) y K₂CO₃ (25 mmol) en agua (20 mL) a 50 °C. La mezcla de reacción fue agitada a 50 °C durante 1 h, luego se añadieron lentamente 10 mmol (1,86 g) de 1,2-dibromoetano. La mezcla resultante fue agitada

durante 7 h a 50 °C. Al concluir la reacción (de acuerdo con la CCD) fueron añadidos 50 mL de CH₂Cl₂, la fase acuosa fue extraída con CH₂Cl₂ (3 x 30 mL), la fase orgánica fue secada con Na₂SO₄ y concentrada. Los compuestos fueron purificados mediante cromatografía de columna (Éter de petróleo - acetato de etilo).

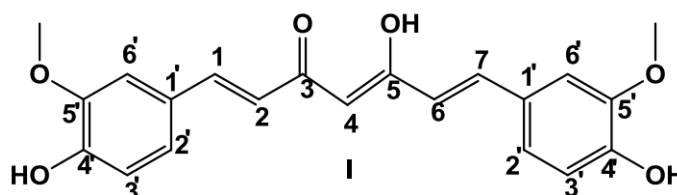
Resultados

Aislamiento de la curcumina (I)

Se partió de 200 g de masa vegetal de *Curcuma longa* L. resultantes de la hidrodestilación. Se extrajo con metanol (500 mL) bajo la acción de ultrasonido (2 h), seguida de concentración y precipitación con acetato de etilo. Se obtuvo una mezcla de curcumina, desmetoxicurcumina y bisdesmetoxicurcumina, siendo la curcumina el componente mayoritario. Se logró separar la curcumina mediante una columna cromatografía, empleando como eluyente una mezcla de tolueno-acetato de etilo en relación (5:1). El producto aislado por este método fue caracterizado espectroscópicamente.

Curcumina

Estructura química:



Sólido naranja

Datos espectroscópicos:

RMN- ¹H (DMSO-d₆, 300 MHz): 3,83 (s, 6H, OCH₃ x 2); 6,05 (s, 1H, H-4); 6,75 (d, 2H, H-2, H-6, ³J_{1,2} = 15,90 Hz); 6,81(d, 1H, H-2', ³J_{2',3'}}= 8,20 Hz); 7,15 (d, 1H, H-3', ³J_{2',3'}}= 8,20 Hz); 7,32 (s, 1H, H-6'); 7,54 (d, 2H, H-1, H-7, ³J = 15,90 Hz); 9,95 (s, 2H, OH x 2, fenólicos); 10,50 (s, 1H, OH).

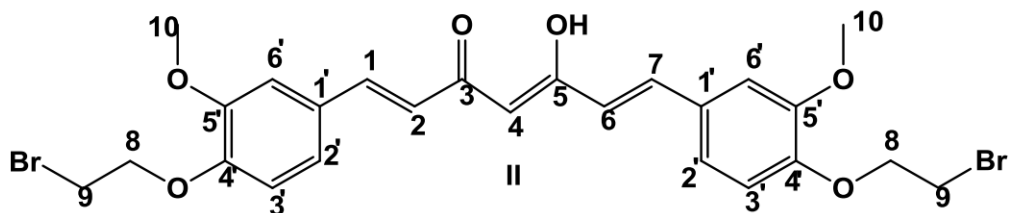
RMN-¹³C (DMSO-d₆, 75.46 MHz): 55,64 (OCH₃ x 2); 100,76 (C-4); 111,28 (C-6'); 115,65 (C-3'); 121,04 (C-2'); 123,08 (C-2, C-6); 126,27 (C-1'); 140,65 (C-1, C-7); 147,93 (C-4'); 149,29 (C-5'); 183,16 (C-3, C-5).

Síntesis de 1,7-bis(4-(2-bromoetoxi)-3-metoxifenil)-5-hidroxihepta-1,4,6-trien-3-ona (II).

El compuesto sintetizado es un sólido de color naranja, se obtuvieron 0,52 g que representan un rendimiento de 89,65 %. La estructura química, los datos de resonancia magnética nuclear (RMN) y la espectrometría de masas de alta resolución (EMAR) se muestran a continuación:

1,7-bis(4-(2-bromoetoxi)-3-metoxifenil)-5-hidroxihepta-1,4,6-trien-3-ona

Estructura química:



Datos espectroscópicos:

RMN-¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ 3,67(t, 2H, H-9, ³J = 6,90 Hz); 3,95(s, 6H, H-10); 4,40(t, 2H, H-8, ³J = 6,90 Hz); 5,85(s, 1H, H-4); 6,53(d, 2H, H-2, H-6, ³J_{1,2} = 15,67 Hz); 6,94(d, 1H, H-2', ³J_{2',3'} = 8,31 Hz); 7,14(d, 1H, H-3', ³J_{2',3'} = 8,31 Hz, ⁴J_{2',6'} = 1,90 Hz); 7,36 (s, 1H, H-6'); 7,63(d, 2H, H-1, H-7, ³J_{6',7'} = 15,67 Hz); 16,02(s, 1H, H-4).

RMN-¹³C (75.46 MHz, CDCl₃), δ (ppm): 28.52(C-9); 58.13(C-10); 68.98(C-7); 101.43(C-4); 110.96(C-6'); 114.0(C-3'); 115.10(C-6); 122.28(C-2); 129.25(C-1'); 140.10(C-1); 140.18(C-7); 149.46(C-4'); 149.89(C-5'); 183.21(C-5); 183.46(C-3).

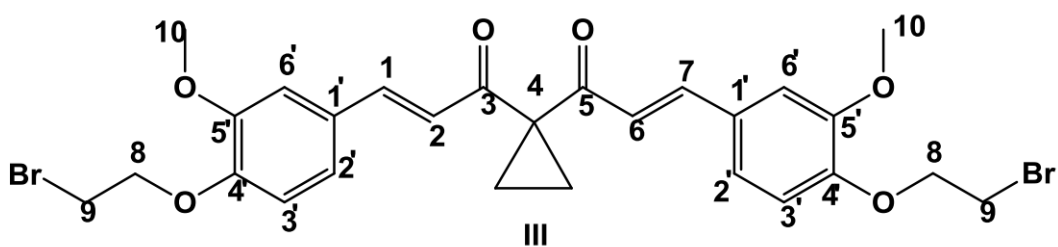
EMAR (M+H), calculada para C₂₅H₂₆Br₂O₆: 581,01, encontrada: 582.04.

Síntesis de 4,4-ciclopropil-bis(3-(4-(2-bromoetoxi)-3-metoxifenil)-prop-2-en-1-ona (III).

El compuesto sintetizado es un sólido de color amarillo, se obtuvieron 0,43 g que representan un rendimiento de 71,66 %. La estructura química, los datos de resonancia magnética nuclear (RMN) y la espectrometría de masas de alta resolución (EMAR) se muestran a continuación:

4,4-ciclopropil-bis(3-(4-(2-bromoetoxi)-3-metoxifenil)-prop-2-en-1-ona

Estructura química:



Datos espectroscópicos:

RMN-¹H (CDCl₃, 500 MHz): δ=1,52 (s, 4H, CH₂ x 2); 3,67(t, 2H, H-9, ³J = 6,90 Hz); 3,95(s, 6H, H-10); 4,40(t, 2H, H-8, ³J = 6,90 Hz); 5,85(s, 1H, H-4); 6,53(d, 2H, H-2, H-6, ³J_{1,2} = 15,67 Hz); 6,94(d, 1H, H-2', ³J_{2',3'} = 8,31 Hz); 7,14(d, 1H, H-3', ³J_{2',3'} = 8,31 Hz); 7,37 (s, 1H, H-6'); 7,63(d, 2H, H-1, H-7, ³J_{6',7'} = 15,67 Hz); 16,02(s, 1H, H-4).

MNR-¹³C (75.46 MHz, CDCl₃), δ(ppm): 28.52(C-9); 58.13(C-10); 68.98(C-7); 101.43(C-4); 110.96(C-6'); 114.0(C-3'); 115.10(C-6); 122.28(C-2); 129.25(C-1'); 140.10(C-1); 140.18(C-7); 149.46(C-4'); 149.89(C-5'); 183.21(C-5); 183.46(C-3).

EMAR (M+H), calculada para C₂₇H₂₈Br₂O₆: 606,03; encontrada: 607,06.

Discusión

Purificación de la curcumina

El empleo de rizomas de *Curcuma longa* L. que previamente fueron sometidos a un proceso de hidrodestilación, facilita la extracción de la curcumina debido a que no hay interferencia del aceite esencial y de resinas, lo que hace posible la precipitación de curcuminoides. A pesar que la curcumina es el componente mayoritario de la mezcla de los curcucuminoides aislados, esta no se puede separar sin el empleo de la cromatografía de columna. La identidad y pureza de la curcumina fue demostrada mediante RMN, la pureza lograda permite que esta pueda ser empleada como materia prima en la semisíntesis de compuestos potencialmente bioactivos.

Obtención del ciclopilderivado de la curcumina

La existencia de un equilibrio ceto-enólico en la curcumina permite la alquilación del grupo metileno en la forma ceto (C-4), al ser los grupos fenólicos más ácidos que el grupo metileno es necesario protegerlos en un paso previo. El empleo de carbonato de potasio como base en relación molar 2:1 respecto a la curcumina, permite la O-alquilación selectiva con un halogenuro de alquilo, en este caso se empleó 1,2-dibromo etano en relación molar 2:1, obteniéndose el compuesto II (Figura 2).

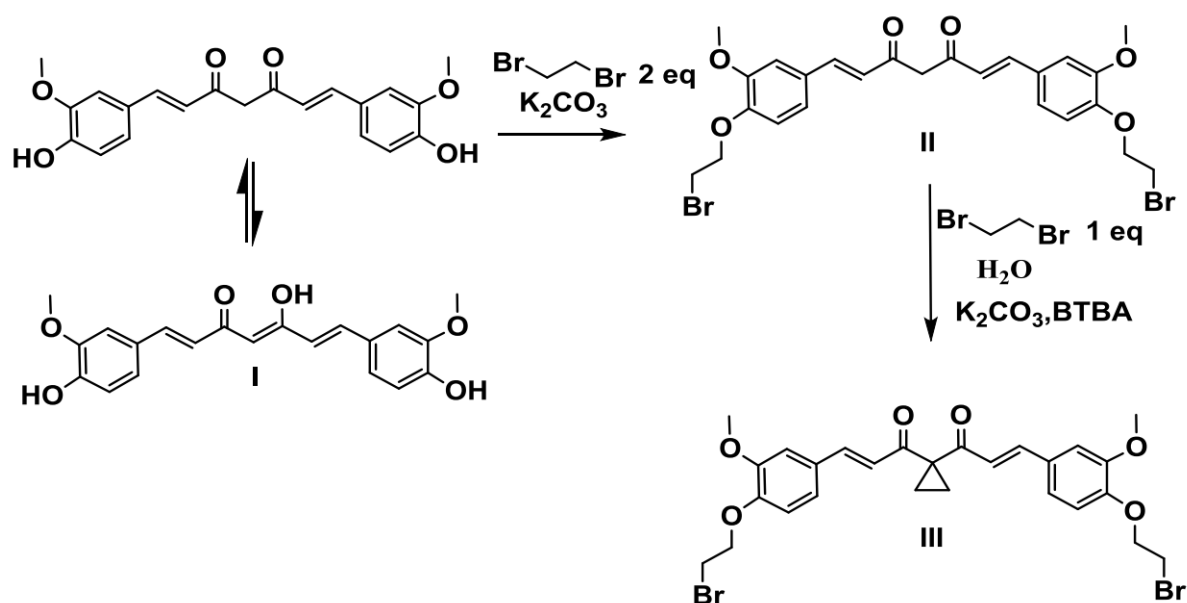


Figura 2: Esquema de reacciones.

En el espectro RMN- ^1H del compuesto II, además de las señales características de los curcuminoides, aparece un singuleto en 16,02 ppm del OH enólico, lo que demuestra que no se produjo reacción en el C-4, así como los multipletos en 3,67 y 4,40 ppm correspondientes a los protones metilénicos vecinos a los átomos de oxígeno y bromo respectivamente, o que demuestra la existencia de los grupos bromoetil. En el espectro RMN- ^{13}C se observan las señales correspondientes a los 25 átomos de carbono de la molécula. El espectro de masas de alta resolución muestra el pico (M+H) 581,01 que coincide con la masa calculada para esta estructura, incrementada en una unidad debido a la adición de un átomo de hidrógeno.

Partiendo del derivado O-alquilado de la curcumina (compuesto II) se procedió a la ciclopropanación. La reacción se desarrolló en medio acuoso debido que el efecto hidrofóbico puede facilitar

considerablemente la reacción de alquilación [10, 12]. La interacción de los reactivos y el catalizador se logró con el empleo de bromuro de tetrabutilamonio como catalizador de transferencia de fases.

Según Sasson y Bilman la catálisis por transferencia de fase para la alquilación en presencia de K_2CO_3 procede por un mecanismo interfacial [13]. Por otra parte Qafisheh y colaboradores reportaron un mecanismo interfacial para la reacción de ciclopropanación del malonato de dietilo empleando 1,2-dibromoetano como agente alquilante en presencia de un catalizador de transferencia de fases (CTF) que facilita la interacción en medio acuoso entre el catalizador básico (K_2CO_3) y el sustrato [14]. La C-alquilación (ciclopropanación) de la curcumina ocurre presumiblemente por un mecanismo similar al planteado por Sasson y Qafisheh [13, 14]. En una primera etapa la base sustrae un protón del sustrato (curcumina) en la interface, posteriormente el bromuro de tetrabutilamonio como CTF, transporta el carbanión formado en la primera etapa a la fase orgánica y por último se produce la reacción de sustitución electrofílica en la fase orgánica. En la reacción de C-alquilación de la curcumina con 1,2-dibromoetano se utiliza K_2CO_3 como catalizador básico, en condiciones básicas la curcumina es inestable, lo que unido al mayor tiempo de reacción, provoca que el rendimiento del producto no sea superior a 71,66 %. El empleo de 1,2-dibromoetano y carbonato de potasio como catalizador básico permite una doble alquilación en C-4, generando un grupo ciclopropilo en esta posición.

En el espectro RMN- 1H del compuesto III se observa un singuleto sobre 1,5 ppm con intensidad que se corresponde con 4H, asignados a los dos grupos metilenos del ciclopropano y no aparece la señal típica del OH enólico y del protón unido al C-4; evidencias que corroboran la ocurrencia de la ciclopropanación. En el espectro RMN- ^{13}C aparece la señal de un nuevo carbono cuaternario sobre 42 ppm, el C-4 de la heptadienona unido al grupo ciclopropilo y una señal sobre 17 ppm, asignada con ayuda de un experimento DEPT a los dos grupos metilenos del ciclopropano. El espectro de masas de alta resolución muestra el pico (M+H) 607,06 que coincide con la masa calculada para esta estructura, incrementada en una unidad debido a la adición de un átomo de hidrógeno. Los datos de RMN y la espectrometría de masas permiten corroborar la estructura propuesta para el compuesto III. Debido a la mayor complejidad que le atribuye a los curcuminoides el sistema conjugado, el que a su vez agrega la posibilidad de adición Michael, la reacción de ciclopropanación se convierte en un reto. Se puede considerar que los resultados alcanzados son alentadores desde el punto de vista sintético y farmacológico, pues permiten introducir en la estructura de la curcumina el anillo ciclopropano de gran interés biológico.

Conclusiones

El empleo de rizomas de *Curcuma longa* L. de los que fue separado el aceite esencial por hidrodestilación, facilita la extracción de la curcumina mediante la precipitación de curcuminoides, seguida de cromatografía de columna. La introducción de un grupo ciclopropilo (ciclopropanación) en el C-4 de la curcumina no se puede realizar sin la protección previa de los grupos fenólicos mediante reacciones de O-alquilación. A partir del derivado O-alquilado de la curcumina es posible realizar la alquilación selectiva en C-4, empleando 1,2-dibrometano como agente alquilante, en relación molar 1:1 respecto a la curcumina, ocurriendo una doble alquilación en el C-4 y generándose un grupo ciclopropilo.

Declaración de conflicto de intereses

No existe conflicto de intereses entre los autores, colaboradores e instituciones involucradas.

Referencias:

1. Valdés González T, Ochoa Martínez M, Falco Manso S, García Herreiz AK, Almora Hernández E, García Cortés R, et al. (2019) Desarrollo y caracterización de un nutraceutico de *Curcuma longa* cosechada en Cuba. *Revista del Archivo. del Hospital Universitario "Calixto García"* 7: 84–98.
2. Panda AK, Chakraborty D, Sarkar I, Khan T, and Sa G (2017) New insights into therapeutic activity and anticancer properties of curcumin. DOI: 10.2147/JEP.S70568.
3. Sahu PK (2016) Design, structure activity relationship, cytotoxicity and evaluation of antioxidant activity of curcumin derivatives/analogues. DOI: 10.1016/j.ejmech.2016.05.037.

4. **Salem M, Rohani S, and Gillies ER** (2014) Curcumin, a promising anti-cancer therapeutic: A review of its chemical properties, bioactivity and approaches to cancer cell delivery. DOI: 10.1039/c3ra46396f.
5. **Teiten MH, Dicato M, and Diederich M** (2014) Hybrid curcumin compounds: A new strategy for cancer treatment. *Molecules* 19: 20839–20863 DOI: 10.3390/molecules191220839.
6. **Schneider TF, Kaschel J, and Werz DB** (2014) A new golden age for donor-acceptor cyclopropanes. DOI: 10.1002/anie.201309886.
7. **Chanthamath S, and Iwasa S** (2016) Enantioselective Cyclopropanation of a Wide Variety of Olefins Catalyzed by Ru(II)-Pheox Complexes. DOI: 10.1021/acs.accounts.6b00070.
8. **Ebner C, and Carreira EM** (2017) Cyclopropanation Strategies in Recent Total Syntheses. DOI: 10.1021/acs.chemrev.6b00798.
9. **Asako S, Kobashi T, and Takai K** (2018) Use of Cyclopropane as C1 Synthetic Unit by Directed Retro-Cyclopropanation with Ethylene Release. DOI: 10.1021/jacs.8b09297.
10. **Torres-Rodríguez E, Morales-León JÁ, Guillén-González Z, Arias-Cedeño Q, Michalik* D, and Vogel C** (2016) Síntesis de 4,4-ciclopropil derivados de curcuminoides en medio acuoso. *Revista CENIC Ciencias Químicas* 47: 43–48.
11. **S PR, S B, Daisy J, and V MP** (2015) Reactive Centers of Curcumin and the Possible Role of Metal Complexes of Curcumin as Antioxidants. DOI: 10.13189/ujpa.2015.030102.
12. **Simon MO, and Li CJ** (2012) Green chemistry oriented organic synthesis in water. DOI: 10.1039/c1cs15222j.
13. **Sasson Y, and Bilman N** (1989) Mechanism of solid/liquid phase-transfer catalysis in the presence of potassium carbonate: Alkylation of pyrrolidin-2-one. DOI: 10.1039/p29890002029.
14. **Qafisheh N, Mukhopadhyay S, Joshi A V, Sasson Y, Chuah GK, and Jaenicke S** (2007) Potassium phosphate as a high-performance solid base in phase-transfer-catalyzed alkylation reactions. DOI: 10.1021/ie060899e.

 **Química Viva**

ISSN 1666-7948

www.quimicaviva.qb.fcen.uba.ar

Revista **Química Viva**

Número 2, año 19, Agosto 2020

quimicaviva@qb.fcen.uba.ar