

Galantamina verde: avances hacia una manufactura farmacéutica sostenible

Yasser Hayek-Orduz

Departamento de Ingeniería Química, Universidad de los Andes

Dorian Armando Acevedo Castro

Departamento de Ingeniería Química, Universidad de los Andes

Andrés Fernando González

Departamento de Ingeniería Química, Universidad de los Andes

Paola A. Caicedo

Facultad de Ciencias, Universidad Icesi

Álvaro Barrera-Ocampo

Facultad de Ciencias, Universidad Icesi

Natalie Cortés

Facultad de Ciencias y Matemáticas, Universidad de Ibagué

Edison H. Osorio

Facultad de Ciencias y Matemáticas, Universidad de Ibagué

María Francisca Villegas-Torres

Departamento de Ciencias Biológicas, Universidad de los Andes



Cápsulas de medicamento. Fotografía por: Freepik.



Investigadora sosteniendo una placa de Petri. Fotografía por: Freepik.



por: Freepik.

Las plantas son fuentes biológicas activas con propiedades medicinales, sin embargo la extracción convencional tiene un costo ambiental significativo, y la síntesis química de compuestos quirales es costosa y poco eficiente. Existe una alternativa más sostenible al diseñar rutas biosintéticas en microorganismos, como las levaduras o las bacterias, para crear biofábricas que pueden producir productos de interés de forma renovable y mediante el empleo de nuevas técnicas computacionales y experimentales.



Persona trabajando en laboratorio. Fotografía por: Freepik.

Introducción

En el camino hacia la transición energética, es crucial adoptar técnicas ambientalmente sostenibles que reduzcan la dependencia a combustibles fósiles y que mitiguen los procesos nocivos en la síntesis de fármacos. La industria farmacéutica, tradicionalmente, ha dependido en gran medida de derivados del petróleo para la producción de reactivos químicos, solventes y otros materiales necesarios en la manufactura de medicamentos [1]. Esta dependencia se extiende a muchos fármacos, incluyendo la galantamina, un alcaloide utilizado en el tratamiento del Alzheimer. En el caso de la galantamina, que se obtiene de plantas de la familia de las amarilidáceas, la producción convencional implica no solo el uso de fertilizantes y pesticidas derivados de combustibles fósiles, sino también

el transporte y los procesos de extracción que consumen grandes cantidades de energía [2]. En este artículo se explorará cómo la biosíntesis de la galantamina a partir de métodos biotecnológicos innovadores representa un paso significativo hacia una manufactura farmacéutica más verde y sostenible, para reducir así la dependencia a combustibles fósiles en múltiples etapas del proceso de producción [3].

La biosíntesis de fármacos como la galantamina por medio del uso de microorganismos como biofábricas emerge como una alternativa verde a la síntesis química convencional. Este enfoque innovador aprovecha el conocimiento del metabolito de interés en un organismo, para insertar las rutas metabólicas en microorganismos

modificados genéticamente. En este proceso se emplean herramientas computacionales avanzadas para identificar genes que no se conocen y para optimizar el metabolismo microbiano, lo que genera un incremento en la producción de los metabolitos de interés. En el caso del tratamiento del Alzheimer, producir galantamina (metabolito) al usar los conocimientos derivados del estudio de las amarilidáceas (organismo).

La transición energética, en el ámbito de la manufactura de fármacos y compuestos bioactivos, se refiere al cambio sistémico de los procesos de producción convencionales dependientes de combustibles fósiles y recursos naturales no renovables. Esta transición implica la adopción de métodos de fabricación basados en fuentes de energía renovables, insumos renovables, procesos eficientes y minimización de desechos. En esencia, se busca desvincular la

producción farmacéutica de su dependencia de los recursos fósiles finitos y así reducir su impacto en el medio ambiente.

Contexto

Las plantas han sido una fuente de compuestos biológicamente activos con propiedades medicinales durante mucho tiempo. Sin embargo, la extracción convencional de estos compuestos tiene un costo ambiental significativo, ya que requiere de grandes cantidades de material vegetal, lo que resulta en procesos ineficientes y con bajo rendimiento, además de generar un considerable costo energético y en gestión de residuos. Por otro lado, la síntesis química de compuestos quirales —como generalmente son los compuestos biológicos (metabolitos de plantas)— es muy costosa y poco eficiente, debido a la distribución espacial específica de ciertos átomos requerida en los productos (enantioselectividad).

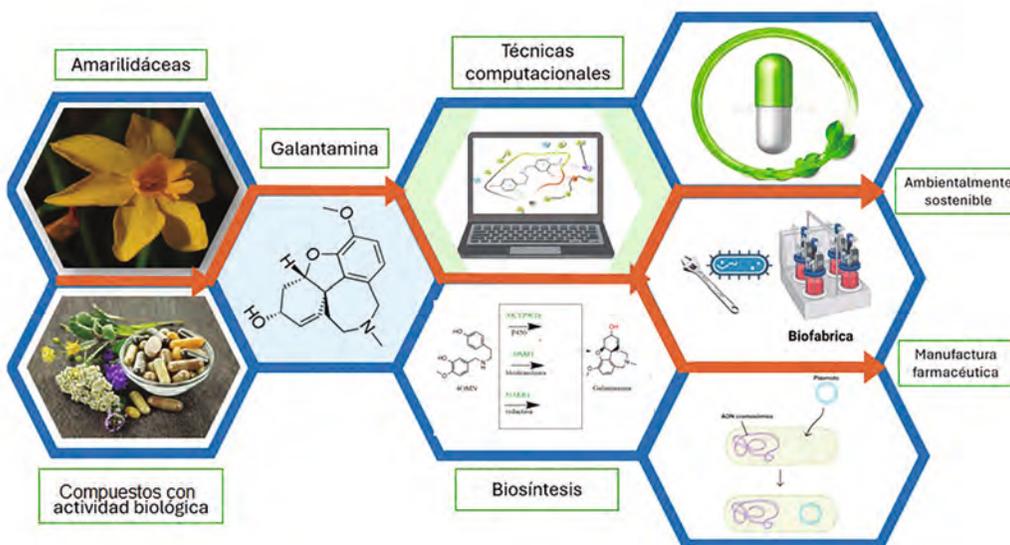


Figura 1. Construcción de una biofábrica microbiana por medio del uso de herramientas computacionales para la producción biotecnológica de galantamina.



Trabajo en el laboratorio. Fotografía por: Freepik.

Por fortuna, los avances que presenta la industria farmacéutica ofrecen una vía alterna más sostenible. Las nuevas técnicas en biología computacional y biología sintética permiten llevar a cabo dicha tarea de una manera amigable con el medio ambiente. Mediante el modelado computacional de las rutas biosintéticas de estos compuestos de interés biológico, es posible comprender los pasos y reacciones enzimáticas involucradas en su desarrollo. Esta información permite a las farmacéuticas, centros de investigación y universidades diseñar estas rutas en microorganismos, como levaduras o bacterias, para crear lo que se conoce como biofábricas, las cuales son capaces de producir en masa productos de interés de forma renovable[4, 5].

Esta alternativa de biofabricación cuya base son los microorganismos modificados para generar los principios activos de los medicamentos presenta algunas ventajas clave, por ejemplo, requiere menos terreno, agua y otros recursos naturales, los cuales, en estos tiempos, son cada vez más valiosos y limitados. Además, al utilizar estas técnicas se optimizan procesos: se reduce drásticamente el consumo de combustibles fósiles, los cuales se emplean para la recolección del material y otras tareas implicadas, esto sin contar con la disminución de desechos generados. De esta manera, la biosíntesis microbiana impulsada por el modelado computacional contribuye de manera significativa en la evolución hacia una producción farmacéutica y química más sostenible, evidenciada en una transición energética respetuosa con el medio ambiente.

Desarrollo

Las plantas de la familia *Amaryllidaceae* se han utilizado en la medicina tradicional (homeopática) debido a sus propiedades terapéuticas [6] como antiviral, antibacterial, antitumoral, antimalárica y propiedades inhibitorias de colinesterasa [7]. Es conocido que varias plantas de esta familia producen compuestos estructuralmente únicos con una amplia gama de actividades biológicas, y la galantamina es el más conocido de ellos. Este compuesto está aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA, por su sigla en inglés) para el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer como un inhibidor de la acetilcolinesterasa, implicada en el desarrollo de la enfermedad [7]. Este es un fármaco de bajo aclaramiento (lenta eliminación del cuerpo), con un volumen de distribución moderado y una baja unión a proteínas plasmáticas (18%) [8]. El descubrimiento de dianas y el de pistas constituyen los principales componentes de la investigación farmacéutica actual. Los avances en quimioinformática han permitido diseñar bibliotecas de compuestos in silico que pueden analizarse virtualmente [9].

La galantamina, extraída de estas plantas, es un compuesto muy interesante para la industria farmacéutica por su versatilidad y actividad frente a la enfermedad. Aunque se conocen algunos aspectos de su síntesis, aún quedan por descubrir muchos detalles sobre su ruta biosintética, estos son cruciales para el desarrollo de este fármaco.

Trabajo en el laboratorio. Fotografía por: Freepik.



Recientemente, mediante técnicas de mutagénesis dirigida, se identificó la proteína CYP96T6, implicada en la transformación del precursor norbelladina en galantamina [10]. Se descubrió que la proteína CYP96T6 interactúa específicamente con la norbelladina y genera una ruta para la síntesis de galantamina. Sin embargo, aún no se comprende completamente cómo interactúa el complejo proteína-ligando, y esta información es crucial para completar la ruta biosintética, además de ser valiosa para procesos de bioingeniería que permitan avanzar hacia una transición energética sostenible y así incrementar los rendimientos de la reacción.

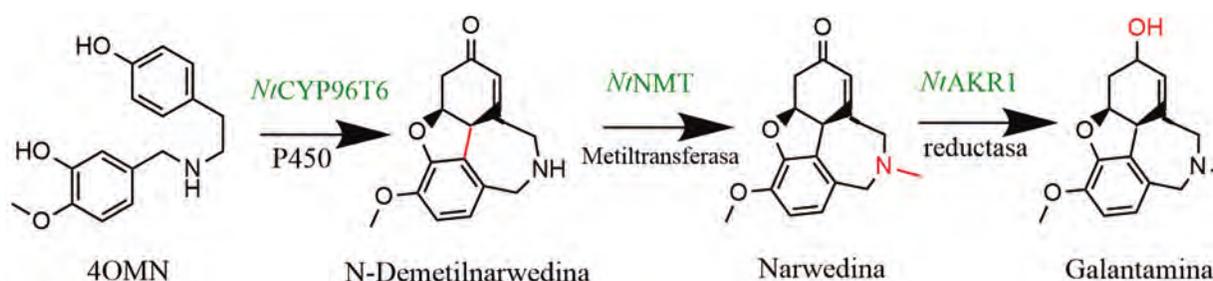


Figura 2. Ruta biosintética de la galantamina. 4OMN: 4-o-metilnorbelladina; NtCYP96T6: enzima citocromo P450; NtNMT: enzima metiltransferasa; NtAKR1: enzima reductasa.

Pese a que la técnica aplicada mostró que la proteína CYP96T6 participa en la ruta para la formación de galantamina, no se tiene claridad sobre un paso fundamental para entender la biosíntesis del compuesto: el cierre de la molécula 4-o-metilnorbelladina (ver figura 2). Si bien se considera que existe un cambio significativo a nivel estructural, aún no se conoce la influencia enzimática de la proteína ni su papel en la selectividad para generar la molécula objetivo [10], por lo que es de suma importancia para los científicos conocer esta información.

El estudio computacional de la ruta biosintética de la galantamina es esencial para diseñar biofábricas microbianas eficientes. Al utilizar técnicas computacionales avanzadas, los científicos pueden modelar y predecir los pasos involucrados en la producción de galantamina, y allanar el camino para una síntesis más sostenible. Estas técnicas en cuestión son el acoplamiento y la dinámica moleculares. La llegada de programas avanzados de modelamiento molecular ha propiciado un aceleramiento en la comprensión de los procesos biológicos complejos y las redes de enfermedades [11]. Además, permiten la elucidación de esquemas de reacción.

Mediante el uso de estas herramientas y la información de las técnicas anteriormente mencionadas, se determinó un método para generar la formación del núcleo estructural de la galantamina como se aprecia en la figura 3. Se identificó que la enzima CYP96T6 genera el ambiente adecuado para que se produzca una reacción conocida como «reacción radicalaria», la cual da como resultado un ciclo cerrado, que es la base para el andamio estructural de la galantamina. Este descubrimiento brinda información significativa para completar parte de la biosíntesis de la galantamina y estos datos facilitarán una síntesis ambientalmente sostenible, lo que disminuye el número de experimentos que usualmente se requieren para estudiar este tipo de reacciones. Lo anterior se traduce en una disminución en el gasto energético y, por ende, en una disminución en el consumo de combustibles fósiles. Por lo tanto, el uso de herramientas computacionales para el diseño de fármacos surge como una alternativa interesante en la industria farmacéutica.

Trabajo en el laboratorio. Fotografía por: Freepik.



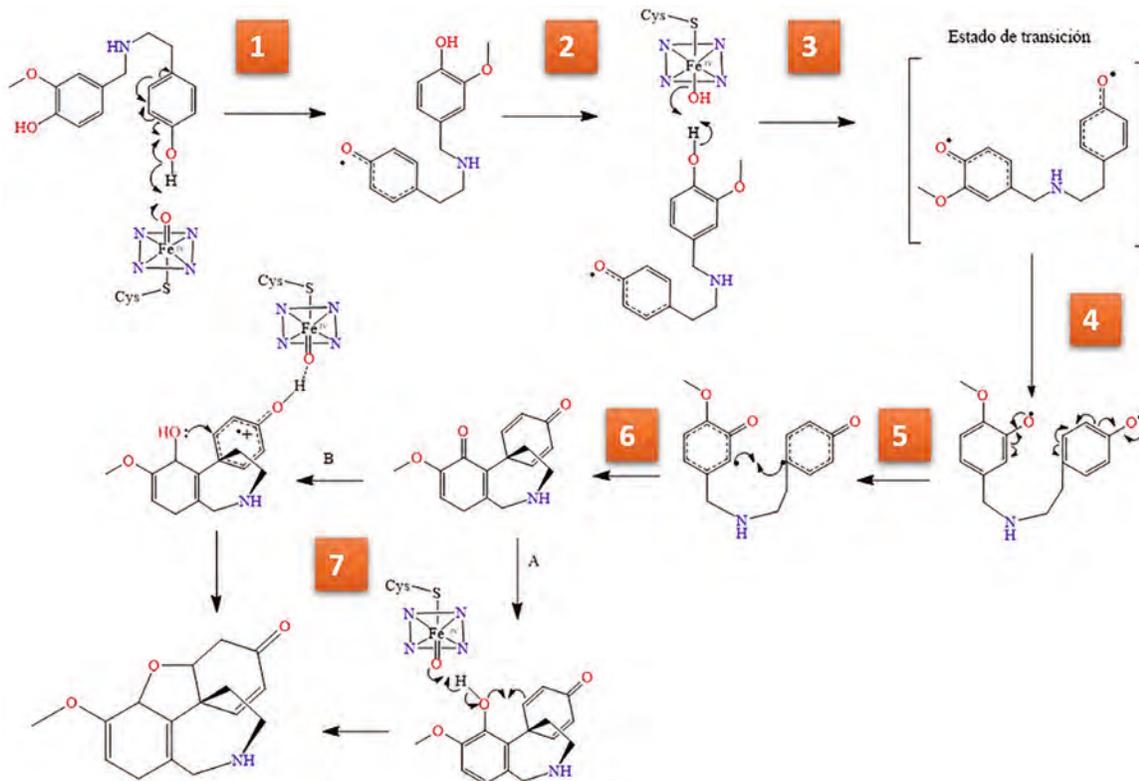


Figura 3. Esquema para la formación del anillo estructural de la galantamina considerando la acción del núcleo de porfirina de la enzima CYP96T6. En el paso 1, la reacción parte desde el ligando en la conformación: sus dos anillos aromáticos se encuentran distanciados. El ligando forma un complejo octaédrico con la porfirina (simplificado como hierro unido a través de azufre a una cisteína, cuatro nitrógenos y un doble enlace con un átomo de oxígeno); en este complejo el átomo de hierro presenta estado de oxidación 4+. El complejo interactúa con el grupo hidroxilo del fenol, el cual se encuentra cerca por la interacción de apilamiento con los anillos aromáticos de la porfirina; esta reacción permite la formación de un radical libre, es decir, moléculas que contienen uno o más electrones desapareados (número impar de electrones) en su orbital exterior. En el paso 2, ya con el radical formado, el grupo de fenol inicia un estado en el que comienza a girar, y se acerca un poco más a la porfirina. En el paso 3, esta se sitúa en una conformación estable, en la cual los dos anillos aromáticos son cercanos entre sí, y el anillo p-metoxifenol no se mueve (debido a las interacciones con residuos aminoácidos no presentados por simplicidad), mientras que el fenol realiza un movimiento hasta adoptar una conformación estable. En el paso 4, ocurre el acoplamiento fenólico oxidativo (cambio en el estado de oxidación), un tipo de reacción intramolecular que requiere sustratos de fenol con grupos donadores de electrones para mejorar la reactividad. Además, los sustratos en una reacción de acoplamiento de fenol intramolecular oxidativa deben aproximarse a paralelos, o casi paralelos, para permitir la alineación de los orbitales. En esta etapa se genera una reacción entre un radical libre y el doble enlace del anillo aromático, en la que el radical aniónico ataca al doble enlace, para así formar el acoplamiento y generar el ciclo de siete miembros con el heteroátomo de nitrógeno. También en este paso se genera una tautomerización, en la que se pierde hidrógeno radical producto de la reacción de acoplamiento.

A partir del paso 5, se da la hipótesis que inicia un nuevo ciclo catalítico, por lo que no se muestran los residuos aminoacídicos en pasos anteriores, ya que puede que estos cambien en el siguiente ciclo catalítico. Recordemos que este puede definirse como una rueda con muchos pasos químicos individuales que giran de manera coordinada a una «velocidad» común, en la que el catalizador se restaura a su condición inicial. Finalmente, en los pasos 6 y 7 se da la formación de la molécula, N-Demetilnarwedina; en este paso se puede optar por dos caminos: A o B. En la ruta A, dada la continuidad del ciclo catalítico, este retoma lo ocurrido en el paso 1 de nuestro esquema de reacción, en el que nuevamente el catalizador interactúa con el hidrógeno del grupo hidroxilo del anillo, para formar así el radical aniónico, el cual, por proximidad, realizará un ataque al doble enlace del anillo y generará el enlace tipo éter, para la formación del núcleo tetrahidrofurano. En la ruta B se puede generar un estado transitorio de traslocación de carga; este estado, el cual a condiciones normales sería muy inestable, se estabiliza por la acción de la porfirina. Entonces, se genera un ataque nucleofílico por parte del OH del grupo p-metoxifenol para cerrar el anillo de tetrahidrofurano, y se genera la molécula objetivo [12-19].

Una vez comprendida la ruta de la galantamina mediante los estudios computacionales previos, la información obtenida puede implementarse en una biofábrica microbiana. Este concepto de «biofábrica microbiana» se basa en reprogramar el metabolismo de microorganismos, para que produzcan compuestos de interés mediante su maquinaria celular [20]. Esto es posible mediante técnicas de ingeniería genética, al insertar los genes que codifican las enzimas que hacen parte de las rutas biosintéticas analizadas [21]. En este contexto, la ingeniería de biofábricas microbianas para la transformación de diversos compuestos en productos de valor agregado, representa un paso significativo hacia la síntesis biológica de fármacos de forma continua, escalable y ambientalmente sostenible [22].

Los microorganismos diseñados no solo producirían galantamina de forma renovable, sino que también permitirían un control más preciso de las condiciones de síntesis, una mayor capacidad de escalamiento y una reducción importantísima de los problemas respecto a los métodos de extracción vegetal. Este enfoque de biología sintética aplicada representa un avance significativo hacia una producción farmacéutica sostenible y económica, y muestra un norte hacia la transición energética deseada.



Trabajo en el laboratorio. Fotografía por: Freepik.

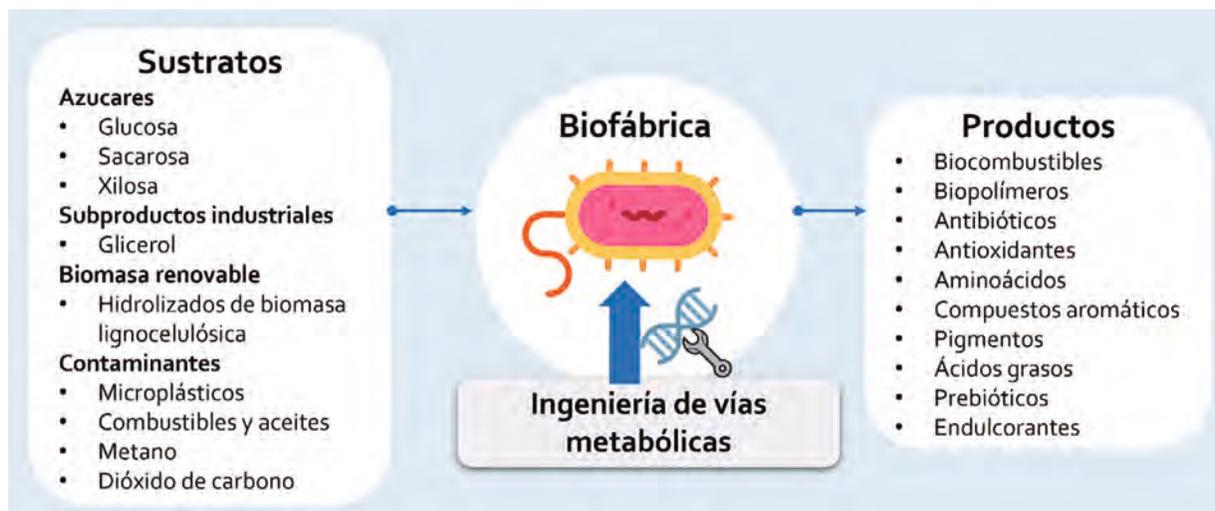


Figura 4. Posibles aplicaciones de la biofábrica a base de microorganismos modificados genéticamente para emplearse en procesos industriales a gran escala [23].

La biofabricación presenta ventajas significativas sobre la extracción de plantas, tales como sostenibilidad y escalabilidad. Este enfoque permite reducir la dependencia de recursos naturales limitados y minimizar el impacto ambiental de la industria farmacéutica. Al utilizar materias primas como azúcares de cultivos renovables o desechos de procesos industriales [22] y procesos altamente eficientes, las biofábricas microbianas representan un avance hacia una manufactura más ecológica y alineada con los objetivos de la transición energética global. La biología sintética aplicada en este contexto ofrece una vía innovadora para la producción de compuestos bioactivos [24, 25].

Conclusión

La creciente demanda global de medicamentos y la necesidad de preservar los recursos naturales exigen modificar radicalmente los procesos de producción tradicionales.

A medida que avanzamos hacia un futuro más consciente ambientalmente, la convergencia entre el modelado computacional y la biología sintética se posiciona como una alternativa clave para lograr una síntesis de fármacos eficiente y menos dependiente de recursos naturales. Este enfoque promete un camino hacia una industria farmacéutica más limpia y responsable.

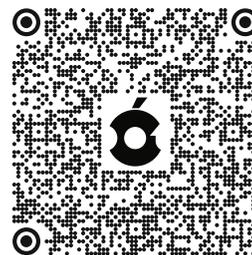
A lo largo de este trabajo, se ha explorado cómo el avance en técnicas de modelamiento computacional permiten descifrar a fondo las intrincadas rutas presentes en los sistemas biológicos. Al comprender estos procesos bioquímicos complejos involucrados en la producción natural de moléculas bioactivas como la galantamina, se abre la posibilidad de replicarlos de manera controlada en sistemas más simples como los microorganismos.

La transferencia de rutas metabólicas específicas a biofábricas microbianas ofrece una alternativa escalable a la extracción tradicional de plantas. Al emplear diversas fuentes de carbono como suministro (alimento) para estos microorganismos modificados genéticamente, es posible aprovechar sus características biológicas para producir continuamente los compuestos con el principio activo deseado. Este enfoque de biología sintética aplicada no solo reduce la dependencia de recursos naturales y minimiza el impacto ambiental, sino que también permite un mayor control sobre las condiciones de síntesis y mejora la capacidad de producción.

Además, la biofabricación de medicamentos basada en microorganismos redefine la producción industrial, y se aleja de procesos químicos contaminantes y de la explotación insostenible de recursos. Este enfoque se alinea con los objetivos de la transición energética global, y es una estrategia crucial para mitigar el cambio climático y fomentar la innovación tecnológica.

En conclusión, la sinergia entre el modelado computacional y la biología sintética nos acerca a un futuro en el que la producción de fármacos sea más eficiente y menos perjudicial para el medio ambiente. Aprovechar estas herramientas permite impulsar una revolución en la industria farmacéutica, pues promueve una producción controlada y escalable de medicamentos esenciales. Este enfoque no solo aporta beneficios económicos y ambientales, sino que también contribuye a una sociedad más consciente y responsable con nuestro ecosistema.

Comparte este artículo:



Referencias

- [1] Rantanen J, Khinast J. The Future of Pharmaceutical Manufacturing Sciences. *J Pharm Sci.* 2015 nov.;104(11):3612-3638. <https://doi.org/10.1002/jps.24594>
- [2] Mofokeng MM, du Plooy CP, Araya HT, Amoo SO, Mokgehle SM, Pofu KM, *et al.* Medicinal Plant Cultivation for Sustainable Use and Commercialisation of High-Value Crops. *S. Afr. J. Sci.* 2022 jul.; 118(7/8). <https://doi.org/10.17159/sajs.2022/12190>
- [3] Kar S, Sanderson H, Roy K, Benfenati E, Leszczynski J. Green Chemistry in the Synthesis of Pharmaceuticals. *Chem Rev.* 2022 febr. 9; 122(3): 3637-3710. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.1c00631>
- [4] Iram A, Dong Y, Ignea C. Synthetic Biology Advances Towards a Bio-Based Society in the Era of Artificial Intelligence. *Curr Opin Biotechnol.* 2024 jun.; 87:103143. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2024.103143>
- [5] Brooks SM, Alper HS. Applications, Challenges, and Needs for Employing Synthetic Biology Beyond the Lab. *Nat Commun.* 2021 mzo. 2; 12(1):1-16. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21740-0>
- [6] Breiterová K, Koutová D, Maříková J, Havelek Radim, Kuneš J, Majorošová M, *et al.* Amaryllidaceae Alkaloids of Different Structural Types from *Narcissus L.* cv. Professor Einstein and Their Cytotoxic Activity. *Plants.* 2020 en. 22; 9(2):1-12. <https://doi.org/10.3390/plants9020137>
- [7] Šafratová M, Křoustková J, Maafi N, Suchánková D, Vrabec R, Chlebek J, *et al.* Amaryllidaceae Alkaloids from *Clivia miniata* (Lindl.) Bosse (*Amaryllidaceae*): Isolation, Structural Elucidation, and Biological Activity. *Plants.* 2022 nov. 10; 11(22):3034. <https://doi.org/10.3390/plants11223034>

- Wilkinson DG. Galantamine: A New Treatment for Alzheimer's Disease. *Expert Rev Neurother.* 2001;1(2):153-159. <https://doi.org/10.1586/14737175.1.2.153>.
9. Terstappen GC, Reggiani A. In Silico Research in Drug Discovery. *Trends Pharmacol Sci.* 2001 en. 1; 22(1): 23-26. [https://doi.org/10.1016/s0165-6147\(00\)01584-4](https://doi.org/10.1016/s0165-6147(00)01584-4).
10. Mehta N, Meng Y, Zare R, Kamenetsky-Goldstein R, Sattely E. A Developmental Gradient Reveals Biosynthetic Pathways to Eukaryotic Toxins in Monocot Geophytes. *bioRxiv.* 2023 may. 12; preprint. <https://doi.org/10.1101/2023.05.12.540595>.
11. Macalino SJY, Basith S, Clavio NAB, Chang H, Kang S, Choi S. Evolution of In Silico Strategies for Protein-Protein Interaction Drug Discovery. *Molecules.* 2018 ag. 6; 23(8): 1963. <https://doi.org/10.3390/molecules23081963>.
12. Shalit H, Dyadyuk A, Pappo D. Selective Oxidative Phenol Coupling by Iron Catalysis. *J Org Chem.* 2019 en. 18; 84(4): 1677-1686. <https://doi.org/10.1021/acs.joc.8b03084>.
13. Hohenberger J, Ray K, Meyer K. The Biology and Chemistry of High-Valent Iron-oxo and Iron-nitrido Complexes. *Nat Commun.* 2012 mzo. 6; 3(720). <https://doi.org/10.1038/ncomms1718>.
14. Kozuch S, Shaik S. How to Conceptualize Catalytic Cycles? The Energetic Span Model. *Acc Chem Res.* 2011 febr. 15; 44(2): 101-110. <https://doi.org/10.1021/ar1000956>.
15. Wu J, Kozlowski MC. Catalytic Oxidative Coupling of Phenols and Related Compounds. *ACS Catal.* 2022 jun. 3; 12(11):6532-6549. <https://doi.org/10.1021/acscatal.2c00318>.
16. Josef Michl. *Organic Chemical Systems Theory.* 3.a ed. En: Meyers RA, editor. *Encyclopedia of Physical Science and Technology.* San Diego, Londres: Academic Press; 2001. p. 497-515.
17. Armstrong DR, Cameron C, Nonhebel DC, Perkins PG. Oxidative Coupling of Phenols. Part 8. A Theoretical Study of the Coupling of Phenoxy Radicals. *J Chem Soc, Perkin Trans.* 2. 1983; (5):575-579. <https://doi.org/10.1039/P29830000575>.
18. Gupta, PK. *Fundamentals of Toxicology.* 1.a ed. Londres, San Diego: Academic Press, BS Publications; 2016. Cap. 8 Biotransformation; 73-85.
19. Munro AW, Girvan HM, McLean KJ. Variations on a (T)Heme-Novel Mechanisms, Redox Partners and Catalytic Functions in the Cytochrome P450 Superfamily. *Nat Prod Rep.* 2007; 24(3): 585-609. <https://doi.org/10.1039/B604190F>.
20. Reardon S. How Synthetic Biologists Are Building Better Biofactories. *Nature.* 2024; 628(8006):224-226. <https://doi.org/10.1038/d41586-024-00907-x>
21. Gosset G. Los microbios como biofábricas. *Revista Ciencia.* 2017 abr.-jun.; 68(2):44-49.
22. Fernández-Niño M, Burgos-Toro D. Engineering Microbial Biofactories for a Sustainable Future. En Lopez-Correa C, Suarez-Gonzalez A, editores. *Genomics and the Global Bioeconomy. A volume in Translational and Applied Genomics.* Londres, San Diego, Cambridge: Academic Press; 2023. p. 25-58.
23. Mendoza-Flores R, Bolívar F, Escalante A. Ingeniería de vías metabólicas: rediseñando bacterias para convertirlas en biofábricas productoras de compuestos de interés. *Biotechnología en movimiento.* 2022 abr., may., jun.; (29). <https://biotecnov.ibt.unam.mx/numeros/29/1.html#content>
24. Hug JJ, Krug D, Müller R. Bacteria as Genetically Programmable Producers of Bioactive Natural Products. *Nat Rev Chem.* 2020; 4: 172-193. <https://doi.org/10.1038/s41570-020-0176-1>
25. Brooks SM, Alper HS. Applications, Challenges, and Needs for Employing Synthetic Biology Beyond the Lab. *Nat Commun.* 2021 mzo. 2; 12:1390. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21740-0>

Laboratorio. Fotografía por: Freepik.

