

UTILIZACIÓN DE UN LABORATORIO VIRTUAL PARA LA ENSEÑANZA EN LA ASIGNATURA METABOLITOS SECUNDARIOS, ADAPTADA AL ESPACIO EUROPEO DE ENSEÑANZA SUPERIOR.

Prof. Responsable: Rafael Peláez Lamamie de Clairac Arroyo. Otros profesores: José Luis López Pérez, Manuel Medar de Agustín, Esther del Olmo Fernández y Raquel Álvarez Lozano.

La asignatura Metabolitos secundarios es una asignatura optativa de la licenciatura y el grado en Biotecnología, que se imparte en el primer cuatrimestre del tercer curso. Los alumnos deben elegir entre dos posibles asignaturas optativas, por lo que aproximadamente la mitad de los alumnos matriculados cursan la asignatura. Esta asignatura les resulta especialmente difícil a los alumnos de Biotecnología, al tratarse de una asignatura de contenido eminentemente químico dirigida a alumnos con una formación predominantemente biológica. Esta especial dificultad se ve agravada por el hecho de que la última asignatura de química, la Química Orgánica (asignatura obligatoria cuatrimestral) se cursa en el primer cuatrimestre del primer curso, por lo que los alumnos tienen dificultades para recordar los contenidos (un cuestionario llevado a cabo el primer día de curso por todos los alumnos que asistieron confirmó que la mayoría de ellos poseían un nivel aceptable en estructura química, deficiente en reactividad y que no recordaban en absoluto los métodos de determinación estructural).

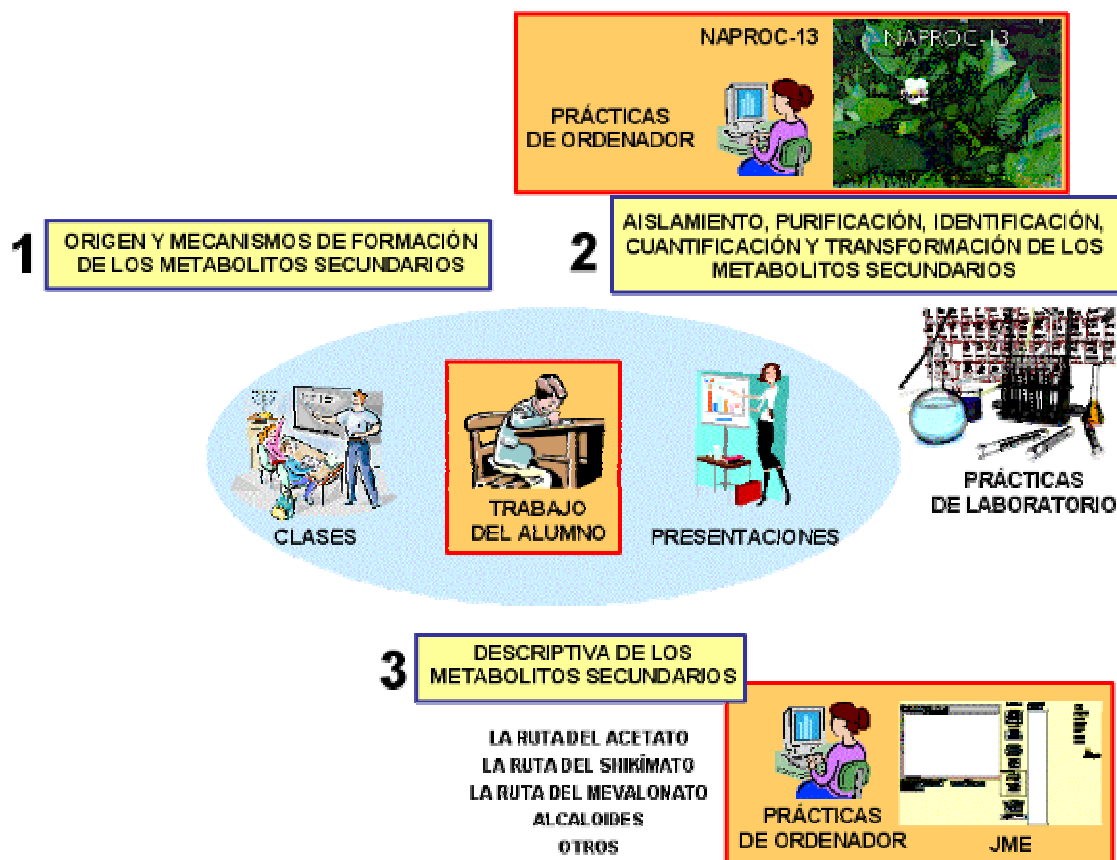


Figura 1.- Diagrama en el que se ilustran los bloques temáticos de la asignatura (1-3) y las metodologías docentes empleadas. Las metodologías comunes a todos los bloques se han enmarcado en un óvalo azul celeste. Los principales puntos de impacto de las nuevas metodologías docentes se han resaltado en naranja.

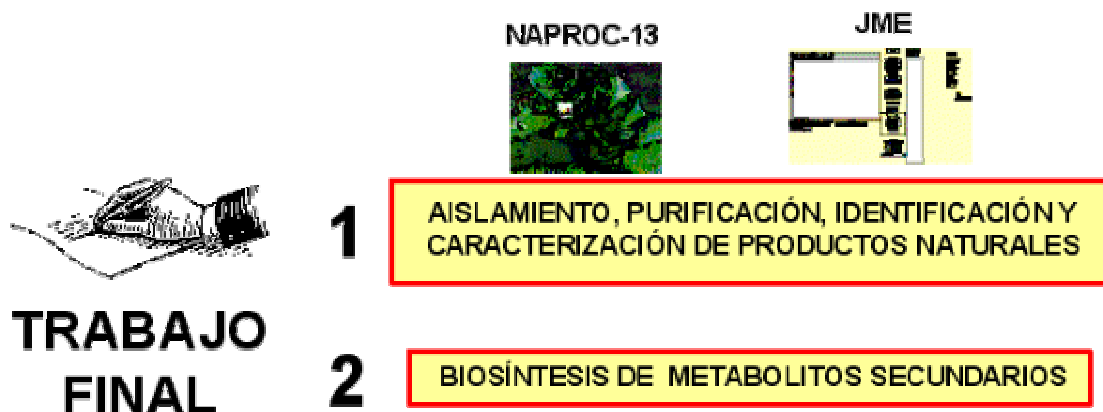
Como se comentará a lo largo de esta memoria, durante el curso los alumnos han adquirido la capacidad de interpretar y discutir publicaciones científicas del área de los metabolitos secundarios y de su biosíntesis. En este notable avance han jugado un importante papel las nuevas metodologías empleadas, ya que les han proporcionado no sólo abundante información sino la capacidad de aprender por ellos mismos. Como se proponía en la propuesta de innovación docente, la asignatura se ha planteado para ajustarse al modelo docente del EEES, por lo que la evaluación de la misma se ha llevado a cabo mediante la elaboración y discusión de trabajos a lo largo del desarrollo de la misma. Como prueba de evaluación final se ha optado por la realización de un trabajo individual y la presentación y discusión del mismo con el profesor y los compañeros. Este trabajo exige a los alumnos la comprensión y discusión de la mayor parte de los contenidos de la asignatura.

Las herramientas docentes utilizadas han sido NAPROC – 13 y JME. Como muestra del impacto de las nuevas metodologías en la docencia de la asignatura, de las dos partes bien diferenciadas de que constaba el trabajo final:

TAREA 1: Aislamiento, purificación, identificación y caracterización de productos naturales. y

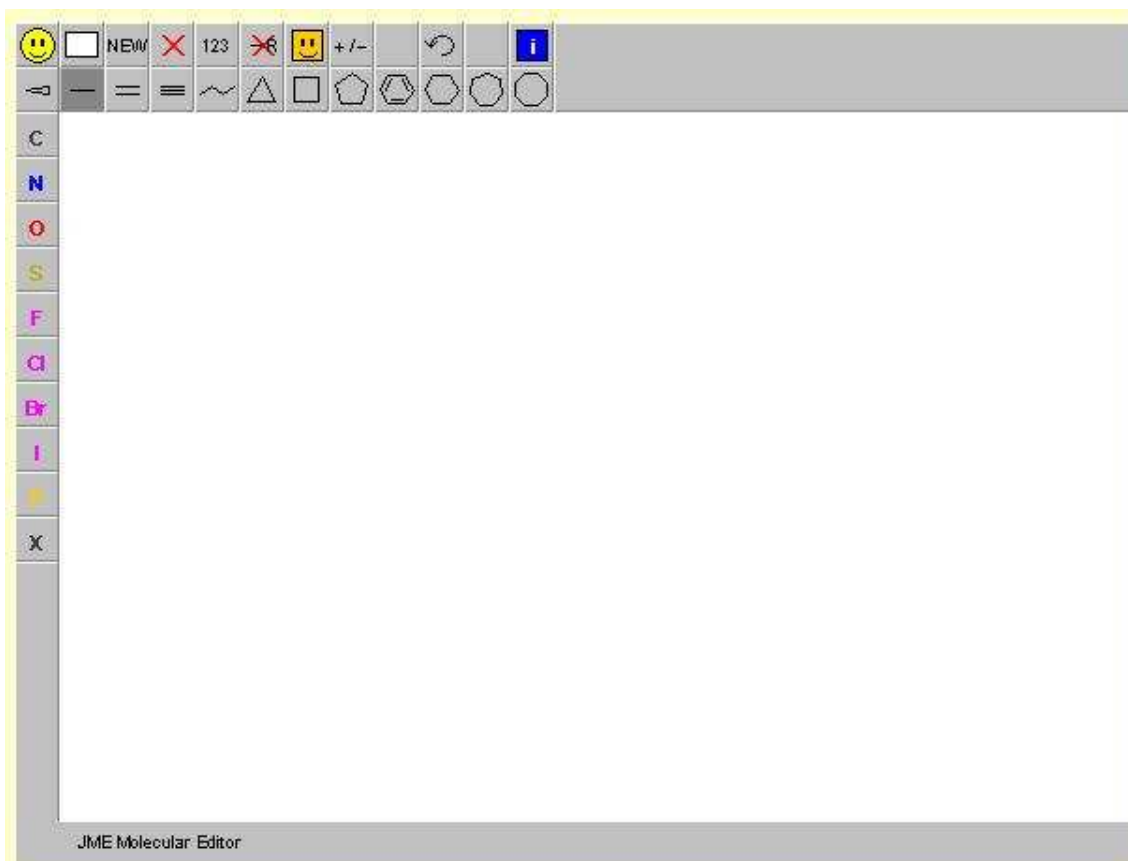
TAREA 2: Biosíntesis de productos naturales. ,

la primera de ellas está basada totalmente en la utilización de las herramientas docentes del grupo de trabajo.



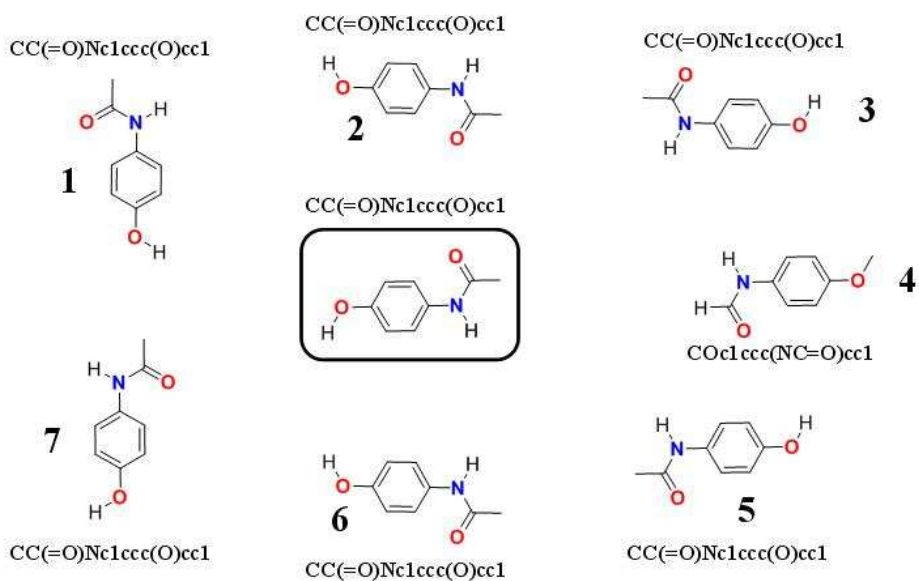
Además, las prácticas de la asignatura se articularon en dos bloques: prácticas de laboratorio en las que se aislaron, purificaron identificaron y cuantificaron metabolitos secundarios y las prácticas de ordenador. En éstas últimas también se aplicaron las herramientas mencionadas con un doble objetivo: la determinación estructural de los metabolitos (BLOQUE TEMÁTICO 2) y la exploración de los tipos estructurales de compuestos (BLOQUE TEMÁTICO 3).

JME es una miniaplicación (applet) de java desarrollado por Peter Ertl en Novartis. Permite el dibujo de estructuras químicas en dos (2D) dimensiones y su conversión en códigos lineales que permiten establecer la constitución química de las moléculas dibujadas, como son el código SMILES, JME, WLN, ROSDAL, etc.... El primer objetivo de la utilización de JME fue el dibujo de estructuras químicas. Los alumnos rápidamente se familiarizaron con su manejo.



Ventana del editor de estructuras químicas JME

Durante las prácticas de la asignatura, los alumnos aprendieron las bases del sistema de codificación SMILES y generaron los códigos SMILES de diversas moléculas orgánicas. Los resultados obtenidos fueron comparados con los producidos por JME. De este modo los alumnos comprendieron rápidamente el funcionamiento de las bases de datos de moléculas químicas y de los sistemas de búsqueda por estructura, subestructura y similitud.



Ejemplo de estructuras químicas y codificación SMILES llevado a cabo por los alumnos de Metabolitos secundarios.

JME (Cortesía de Peter Ertl; Novartis) ----- Ayuda JME

Ocultar código JME Ocultar código smiles Estructura Texto Todo

LIMPIAR:

AGrupACIONES:
Selecciona sustituyente

```
11 11 C 17.94 -8.85 O 16.72 -6.75 O 15.51 -14.45 C 16.72 -12.35 C 14.30
-12.35 C 16.72 -10.95 C 14.30 -10.95 N 15.51 -8.85 C 16.72 -8.15 C
15.51 -13.05 C 15.51 -10.25 1 9 1 2 9 2 3 10 1 4 6 1 4 10 2 5 7 2 5 10
1 6 11 2 7 11 1 8 9 1 8 11 1
```

CC(=O)Nc1ccc(O)cc1

La ventana muestra los códigos producidos por JME para el paracetamol de la figura anterior

Una vez familiarizados con el programa, los alumnos pueden practicar de forma autónoma. La utilización de herramientas informáticas para almacenar y procesar información química es un aprendizaje que los alumnos de biotecnología no habían realizado con anterioridad.

Además de servir como herramienta intermedia entre el usuario y la base de datos NAPROC – 13, el grupo de trabajo ha implementado en JME una herramienta de visualización, clasificación, búsqueda y numeración de diversas estructuras básicas de productos naturales. Esta utilidad se ha aprovechado para que los alumnos de biotecnología se familiaricen con los tipos estructurales de productos naturales, mediante una búsqueda individualizada de tipos estructurales concretos. Así, a cada alumno se le ha proporcionado una serie de hojas en las que figuran los nombres de grupos estructurales de productos naturales (p. ej: secoiridoides, naftoquinonas, cromononas, etc...). Utilizando la herramienta de búsqueda por nombres de JME, los alumnos pueden obtener la estructura típica de ese tipo de compuestos, que deben trasladar al papel. De esta forma los alumnos se familiarizan con los tipos estructurales de productos naturales. Además, la comparación de los tipos estructurales de unos alumnos con otros nos habría permitido deducir características estructurales comunes a las clases. Sin embargo, esto habría requerido disponer de un ordenador adicional en el que instalar el software y la base de datos, como se indicó en la propuesta del proyecto, pero que debido a la limitación del presupuesto no estaba disponible.

Chromanones

Alkaloids
Aromatics
Benzofuranoids
Carbohydrates
Chromans
 Chromans
 Chromanones
 Chromones
 beta_Chromenes
 alpha_Chromenes
 Coumarins
 Phenanthropyranoids
Isochromans
Flavonoids
Lignanoids
Steroids
Polyketides
Terpenoids
Fragments

Muestra del listado interactivo de JME, con el resultado en pantalla para las cromononas, incluyendo la numeración de las mismas.

Esta utilidad de búsqueda de tipos estructurales en JME resulta extremadamente útil a los alumnos de biotecnología, ya que les permite buscar tipos estructurales de productos naturales sin tener un conocimiento a priori de la clase a la cual estos pertenecen (mono-, di-, tri-, sesqui- terpenoides, alcaloides, naftoquinonas, etc...). El editor les proporciona además una numeración aceptada de los sistemas, lo que en muchos casos les permite comprender las nomenclaturas semisistemáticas empleadas en la bibliografía, sin la necesidad de conocer las normas completas de nomenclatura, ni los nombres de los sistemas básicos, ni su numeración. Sin la ayuda de esta herramienta esta actividad **HABRÍA SIDO IMPOSIBLE**, lo cual habría limitado enormemente la capacidad de los alumnos para comprender el lenguaje empleado en las publicaciones. Aunque de esta manera los alumnos no aprenden los sistemas de nomenclatura exhaustivamente (aspecto imposible en una asignatura de esta duración y, además, no es el objetivo de la misma), sí se consigue que adquieran la capacidad de interpretar los nombres de los metabolitos secundarios con un esfuerzo mínimo por su parte.

J. Nat. Prod. 2004, 67, 1889-1899

Iridoid Glucosides and *p*-Coumaroyl Iridoids from *Viburnum luzonicum* and Their Cytotoxicity

Yoshiyuki Uchiyama,^{1*} Yuma Mizushima,^{2*} Yoshiko Kishimoto,³ Gu-Sheng Chen,³ Hirotsugu Takahashi,¹ and Tetsuyuki Esashi¹

¹Institute of Pharmaceutical Science, Faculty of Pharmaceutical Science, Tokushima University, 743-0292, Tokushima 743-0292, Japan, and Department of Pharmacy, Kaohsiung Medical University, Kaohsiung, Taiwan, Republic of China

Received June 15, 2004

Four new iridoid glucosides (1–4) and seven new iridoidaglycones (5–11) bearing 6*O*- or 8*O*-*p*-coumaroyl groups were isolated from a methanol extract of the dried leaves of *Viburnum luzonicum* collected in Kaohsiung, Taiwan. The structures of the new compounds, named luzonin A (1), luzonin B (2), luzonin C (3), luzonin D (4), luzonin A (5), luzonin B (6), luzonin C (7), luzonin D (8), luzonin E (9), luzonin F (10), and luzonin G (11), were elucidated by analysis of spectroscopic data and comparison with values for compounds known substances. Among the iridoids isolated in the present study, luzonins 1 and 2, and their aglycons 5–8, exhibited moderate inhibitory activity against HeLa S3 cancer cells, whereas 9 and 4 showed no cytotoxicity even at 100 μ M.

Buscador - Mozilla Firefox

http://farmaceutica.dep.usal.es/jme/buscador.htm

Búsqueda

irido

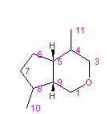
Resultados

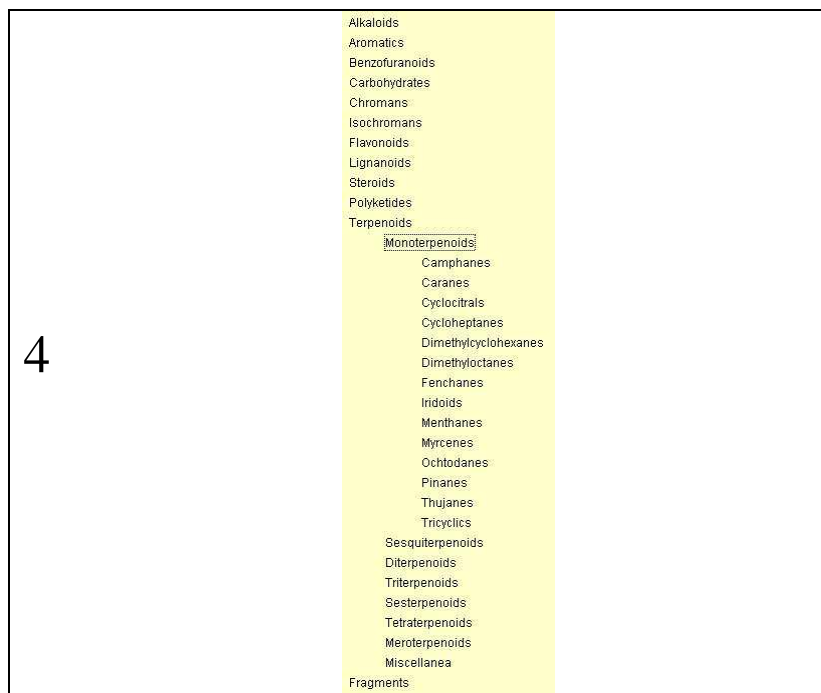
13 Esqueletos

<p>Iridoids</p> <p>Iridoids-1Glycoside</p> <p>Iridoids-1Glycoside-5-OH-8Ac</p> <p>furo-4-6-gluco-1-Iridoids</p> <p>furo-10-1-Iridoids</p> <p>spiro-8-gluco-1-Iridoids</p> <p>seco-Iridoids-1Glycoside</p>	<p>Iridoids-5-OH-8Ac</p> <p>Iridoids-1Glycoside-8Ac</p> <p>gluco-7-Iridoids</p> <p>furo-4-6-gluco-3-Iridoids</p> <p>spiro-8-Iridoids</p> <p>seco-Iridoids</p>
---	---

Terminado

Iridoids





Secuencia lógica de búsqueda de información en JME por los alumnos a partir de una publicación: 1) Encabezamiento de una publicación sobre productos naturales empleada para el trabajo final. En el título ya se aprecia la necesidad del empleo de la herramienta de búsqueda de JME para comprender su significado. 2) El buscador (aún tecleando sólo parte del nombre permite localizarlos. 3) El visor muestra la estructura y su numeración, permitiendo localizar los sustituyentes. 4) Posteriormente, es posible determinar la clase de productos naturales a la que pertenece.

NAPROC-13 (Natural Products C-13 NMR) es una base de datos con más de 14000 compuestos de acceso libre en Internet en la URL <http://c3.usal.es>. NAPROC-13 emula espectros de Resonancia Magnética Natural de Carbono 13 (RMN ¹³C) basándose en datos reales experimentales. La RMN ¹³C es la técnica más potente en la elucidación y determinación estructural. Esta aplicación está siendo desarrollada por nuestro grupo de trabajo; es un laboratorio virtual que contiene información estructural y datos espectroscópicos de miles de productos naturales.

Mediante el uso de NAPROC-13, pretendemos que los estudiantes que cursen la asignatura “metabolitos secundarios” se familiaricen con la práctica de la identificación de productos naturales conocidos y la elucidación estructural de nuevos productos naturales, mediante el empleo combinado de la resonancia magnética nuclear y las búsquedas en bases de datos de información química y espectroscópica, lo que contribuirá al desarrollo de capacidades y adquisición de competencias en estos campos. Para ello, durante las clases se introduce a los alumnos en la determinación estructural (un cuestionario llevado a cabo a principio de curso muestra una carencia casi total de formación en este campo). En cuatro horas de clase presencial se describen las principales técnicas espectroscópicas (UV, IR, RMN-1H, RMN-13C) y su significado estructural, con una orientación eminentemente práctica (ser capaz de predecir el espectro esperado para una estructura dada). Estos mismos contenidos se imparten a alumnos de Farmacia en 9 horas, en un contexto de Química Orgánica. La utilización de NAPROC, que permite a los alumnos comparar sus predicciones con resultados experimentales hace que los alumnos aprendan mucho más rápidamente, observándose una notable diferencia a favor de los alumnos de Biotecnología, a pesar de su menor formación química. Así, TODOS los alumnos fueron capaces de asignar

CORRECTAMENTE los datos espectroscópicos de una publicación de productos naturales y de interpretar su importancia en la determinación de su estructura. ESTE APRENDIZAJE HABRÍA SIDO TOTALMENTE INVIABLE sin NAPROC – 13.

Durante las prácticas de la asignatura, los alumnos practicaron con los espectros de la base de datos. Sin embargo, al no disponer de un servidor que se pudiera utilizar de forma local, por la restricción presupuestaria, los alumnos no pudieron acceder a los espectros simulados de RMN de ^{13}C . Sin embargo, sí que se familiarizaron con su apariencia a través de diversas publicaciones. Una de los ejemplos que les resultó más atractivo fue la determinación de la estructura de un compuesto aislado de un insecto atrapado en ámbar en el Eoceno. Con la ayuda de NAPROC -13, los alumnos determinaron la estructura del compuesto utilizando los datos que aparecían en la publicación. Esto les resultó altamente satisfactorio.



Para la elaboración de la TAREA del trabajo final de la asignatura, los profesores de la asignatura seleccionaron publicaciones de aislamiento, purificación e identificación de productos naturales con potencial aplicación terapéutica (aislamientos bioguiados) que condujeran al aislamiento y caracterización de compuestos que resultaran interesantes a los alumnos por su potencial aplicación. La selección se llevó a cabo de modo que en las publicaciones se incluyera:

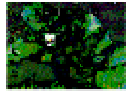
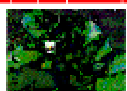


- el aislamiento y purificación del producto natural (BLOQUE TEMÁTICO 2 y prácticas de laboratorio)
- la determinación estructural, incluyendo los datos de UV, IR, RMN-1H y RMN- ^{13}C (BLOQUE TEMÁTICO 2 y prácticas de laboratorio y de ordenador) con justificación de la importancia de los mismos en la determinación de la estructura. Las estructuras seleccionadas no podían ser muy complejas, para evitar una dificultad excesiva. Además se optó por que todos los alumnos tuvieran que hacer un compuesto de similar dificultad.
- El nombre semisistemático de los compuestos aislados (prácticas de ordenador y JME)
- Referencias al origen biosintético y clase estructural al que pertenecen los metabolitos aislados (BLOQUES TEMÁTICOS 1 y 3)

En esta selección, la disponibilidad de NAPROC-13 resultó nuevamente de gran ayuda. Además, los alumnos podían encontrar su compuesto y la publicación original mediante la información proporcionada en NAPROC-13.

De acuerdo con los comentarios realizados por ellos mismos, los trabajos finales obligaron a los alumnos a revisar exhaustivamente los contenidos de la asignatura. Además, muchos de ellos expresaron su agrado por el carácter aplicado del mismo y resaltaron la importancia de las herramientas docentes en la consecución del mismo. Éstas les posibilitaron además un aprendizaje personalizado, ya que cada herramienta les permitía compensar sus deficiencias de formación en apartados específicos. Esto se complementó con la tutoría del profesor.

A continuación se muestra un ejemplo de trabajo final (NOTA: A los alumnos se les entregó una versión modificada de la publicación en la que se habían ocultado algunos de los respuestas a las cuestiones que se les planteaban. La respuesta, aunque fuera parcial, a algunas de éstas cuestiones les conduciría a la publicación original, con lo que tendrían acceso al original y podrían contrastar sus resultados.):

El siguiente texto está extraído de una publicación de productos naturales del último quinquenio. El compuesto asignado tiene en el trabajo el mismo número que en la publicación original, para facilitar su comparación con ésta.

<p>1.- Introducción: Objetivo e interés de la publicación</p> <p>2.- Haga un esquema del proceso de aislamiento y purificación del compuesto asignado.</p> <p>3.- Prediga los datos de IR para el compuesto asignado, utilizando lo aprendido en el curso. Compárelos con los datos encontrados experimentalmente. Indique qué elementos estructurales presentes son los responsables de las absorciones con significado estructural. Proponga, cuando sea posible, elementos estructurales alternativos que darían lugar a esas absorciones y señale formas de decidir de cuál se trata.</p> <p>4.- Prediga los datos de ¹H-RMN para el compuesto asignado, utilizando lo aprendido en el curso: a) N° de señales esperado, b) intensidad de las señales, c) desplazamiento químico, d) multiplicidad y e) sistemas de spins acoplados presentes. Compárelos con los datos encontrados experimentalmente.</p>	<p>5.- Prediga los datos de ¹³C-RMN para el compuesto asignado, utilizando lo aprendido en el curso: a) N° de señales esperado, b) intensidad de las señales, c) desplazamiento químico y d) multiplicidad. Compárelos con los datos encontrados experimentalmente. Indique el significado estructural de los datos.</p> <p>6.- Busque el compuesto en la base de datos de ¹³C. ¿A qué grupo estructural pertenece el compuesto asignado? Elija 5 carbonos y haga búsquedas que devuelvan más de 3 compuestos hasta que el primer compuesto encontrado sea el asignado. Seleccione en la base de datos la familia y tipo de compuesto. A la vista de las estructuras de los compuestos obtenidos en las búsquedas, sugiera los carbonos más representativos para hacer búsquedas de compuestos estructuralmente relacionados, si se desea encontrar el tipo de compuestos.</p> <p>7.- Busque la numeración del compuesto base en JME. Indica la estructura de referencia para nombrarlo y sugiera un nombre semi-sistemático.</p>	
		 <p>NAPROC-13</p>
		 <p>NAPROC-13</p>
		 <p>JME</p>
		 <p>JME</p>

El uso de JME y NAPROC-13 ha permitido que los estudiantes que cursaron la asignatura “metabolitos secundarios” se familiarizaran con la práctica de la identificación de productos naturales conocidos y la elucidación estructural de nuevos productos naturales, mediante el empleo combinado de la resonancia magnética nuclear y las búsquedas en bases de datos de información química y espectroscópica, lo que contribuirá al desarrollo de capacidades y adquisición de competencias en estos campos.

El diseño de la asignatura para ajustarse al modelo europeo de la enseñanza superior ha llevado a una asignación de créditos teniendo en cuenta el volumen total de trabajo que el estudiante debe realizar para superar esta materia y no en las horas de docencia en sí mismas. Con la ayuda de las herramientas docentes desarrolladas por el grupo de trabajo se ha logrado un aprovechamiento muy superior de dicho esfuerzo, habiéndose logrado muchos de los objetivos propuestos:

- Fomentar la formación orientada a la consecución de competencias específicas en el campo de los Productos Naturales.
- Desarrollar recursos capaces de generar conocimientos de alto nivel y de facilitar el aprendizaje autónomo
- Promover una progresiva autonomía de los estudiantes en los procesos de aprendizaje
- Potenciar las competencias transversales en el alumnado.
- Desarrollar las habilidades que permitan a los estudiantes acelerar el proceso de elucidación estructural de los nuevos compuestos naturales.
- Desarrollar las destrezas de analizar la información espectral procedente de los distintos compuestos presentes en la aplicación que han sido publicados por distintos autores y con experimentos realizados en distintas condiciones experimentales.
- Fomentar la habilidad de realizar búsquedas en bases de datos de información química y espectroscópica: búsquedas selectivas, búsquedas de búsquedas, etc.
- Desarrollar capacidades de razonamiento, análisis, síntesis y de extrapolación de los resultados encontrados
- Adquisición de competencias en el campo de la Quimioinformática