



Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Xochimilco

**División de Ciencias Biológicas y de la
Salud Departamento de Sistemas
Biológicos Química Farmacéutica
Biológica**

Datos personales

Nombre: Walkyria Camargo Monroy

Matrícula: 2222033456

CURP: CAMW021216MDFMNLA1

Correo electrónico: walkycamargo@gmail.com,
2222033456@alumnos.xoc.uam.mx

Datos del proyecto

Nombre del proyecto: Aplicación de reductasas de semillas para obtener
alcoholes quirales.

Lugar de realización: Laboratorio N-201 Biotransformaciones,
Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Xochimilco.

Fecha de inicio y terminación: 30 de junio de 2025 al 30 de diciembre de 2025

Asesor interno: Dra. Aida Solís Oba, No. Eco 21208 

Asesor interno: Dra. Rubria Marlen Martínez Cásares, No Eco 41833 

Índice

Introducción	3
Planteamiento del problema y justificación	3
Hipótesis	4
Objetivo general.....	4
Objetivos específicos	4
Antecedentes.....	4
Quiralidad en los compuestos orgánicos	4
Biocatálisis	5
Alcoholes quirales en la industria farmacéutica	5
Materiales y Métodos.....	6
Preparación de la fuente biocatalizadora	6
Reducción biocatalítica de cetonas	6
Determinación del exceso enantiomérico	6
Resultados y discusión	9
2,3,4-Acetilpiridinas	10
Acetofenonas halogenadas	11
Acetofenonas con sustituyentes metil, metoxi y nitro.....	12
Propiofenonas	13
Cetonas heteroaromáticas derivadas de tiofeno.....	14
Conclusión	14
Bibliografía.....	15
Anexos.....	16
Anexo 1. Cromatogramas utilizando la cromatografía de gases con columna quiral	16

Introducción

La creciente demanda de fármacos más eficaces y seguros ha impulsado la necesidad de desarrollar metodologías para la preparación de compuestos enantioméricamente puros en la industria farmacéutica. Muchos principios activos son quirales, lo que significa que existen en dos formas especulares no superponibles llamadas enantiómeros. Esta característica es de gran relevancia porque cada enantiómero puede tener una actividad biológica diferente; mientras uno puede ser terapéutico, el otro puede resultar inactivo o incluso tóxico. (Ceramella *et al.*, 2022).

En este contexto, la biocatálisis ha surgido como una alternativa eficiente y ecológica a los métodos químicos tradicionales. Esta técnica utiliza enzimas para llevar a cabo transformaciones químicas específicas, permitiendo obtener productos con alta selectividad quimio, regio y enantioselectiva. A diferencia de los catalizadores metálicos, las enzimas operan bajo condiciones suaves de temperatura y presión, lo que reduce el consumo energético y la generación de residuos. En particular, las reductasas vegetales han demostrado ser útiles para la reducción estereoselectiva de cetonas, generando alcoholes quirales con alta pureza óptica (Rossino *et al.*, 2022; Bizerra *et al.*, 2010).

Diversos estudios han utilizado semillas como fuentes económicas y accesibles de enzimas, destacando especies como *Vigna unguiculata* (Oaikhena, *et al.*, 2013). Sin embargo, el potencial de semillas ampliamente cultivadas en México, como las de *Phaseolus vulgaris*, no ha sido explorado con profundidad. Este proyecto tiene como propósito evaluar la capacidad de las semillas de *Phaseolus vulgaris* para actuar como biocatalizadores en la obtención de alcoholes quirales a partir de cetonas aromáticas, aprovechando su contenido natural de enzimas reductasas (Bizerra *et al.*, 2010).

Este trabajo se realizó con el propósito de evaluar el potencial biocatalítico de las semillas de *Phaseolus vulgaris*, una leguminosa de amplia disponibilidad en México, para obtener alcoholes quirales a partir de cetonas aromáticas mediante bioreducción. Esta investigación buscó demostrar que estas semillas, al contener enzimas reductasas, pueden representar una alternativa económica, ecológica y eficiente frente a los métodos químicos tradicionales, contribuyendo al desarrollo de procesos más sostenibles y selectivos en la industria farmacéutica para la síntesis de compuestos quirales.

Planteamiento del problema y justificación

La producción de alcoholes quirales es crucial en la síntesis de fármacos, ya que muchos principios activos requieren una configuración estereoquímica específica para ser seguros y eficaces. Los métodos químicos tradicionales para obtener estos compuestos suelen ser costosos, poco selectivos y ambientalmente problemáticos. En contraste, las semillas de leguminosas como *Vigna unguiculata* han demostrado poseer enzimas capaces de reducir cetonas de forma enantioselectiva, generando alcoholes quirales con altos rendimientos y pureza óptica. Sin embargo, el potencial catalítico de las semillas de diversos tipos de frijol (*Phaseolus vulgaris*), ampliamente disponibles en México, no ha sido investigado a profundidad, lo cual limita su aprovechamiento como biocatalizador

para la industria farmacéutica.

Hipótesis

Las reductasas presentes en las semillas de frijol *Phaseolus vulgaris* serán capaces de llevar a cabo la reducción enantioselectiva de cetonas a sus correspondientes alcoholes.

Objetivo general

Obtener alcoholes quirales por bio-reducción de cetonas utilizando semillas de *Phaseolus vulgaris* como fuente de enzimas reductasas.

Objetivos específicos

- Evaluar la actividad reductasa de las semillas de *Phaseolus vulgaris* para reducir diferentes tipos de cetonas aromáticas.
- Evaluar el efecto de la estructura química de la cetona sobre la capacidad de conversión y enantioselectividad de las reductasas presentes en las semillas de *Phaseolus vulgaris*.
- Desarrollar el método analítico para determinar la conversión por cromatografía de gases (CG) y exceso enantiomérico por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Antecedentes

Quiralidad en los compuestos orgánicos

La quiralidad, que se refiere a la propiedad de ciertas moléculas de existir en formas especulares no superponibles, estas moléculas son conocidas como enantiómeros o isómeros quirales. La asimetría estructural de estos compuestos puede generar diferencias significativas en sus actividades biológicas y en los resultados terapéuticos obtenidos (Kannappan, 2024).

Ejemplos como el de la talidomida han evidenciado la importancia de controlar la estereoquímica en el desarrollo de fármacos, lo cual ha motivado el diseño de métodos más selectivos y ambientalmente sostenibles para la obtención de compuestos quirales (Ceramella et al., 2022).

Tras la administración oral de un fármaco quiral racémico, este experimenta una serie de etapas que incluyen la fase farmacéutica, la farmacocinética (que abarca absorción, distribución, metabolismo y excreción) y la farmacodinámica (interacción entre el fármaco y su receptor). Estos procesos están mediados por enzimas, que en su mayoría poseen quiralidad, lo cual resulta en una discriminación diferencial de los enantiómeros en cualquiera de estas fases. Las distintas actividades biológicas observadas entre enantiómeros se deben a sus interacciones con sistemas biológicos quirales, como receptores y proteínas. Mientras un enantiómero puede unirse con

eficacia a su receptor objetivo y desencadenar el efecto terapéutico deseado, el otro puede ser inactivo o incluso tóxico (Kannappan, 2024).

Biocatálisis

La biocatálisis es una técnica que utiliza biocatalizadores, principalmente enzimas, para llevar a cabo reacciones químicas bajo condiciones ambientalmente benignas, empleando reactivos no tóxicos y solventes acuosos u orgánicos. Esta metodología se ha consolidado como una herramienta valiosa tanto para biólogos moleculares como para químicos orgánicos, gracias a la alta tolerancia de los biocatalizadores a una amplia variedad de sustratos, así como a su capacidad para conferir selectividad quimio, regio y enantioselectiva en diferentes tipos de reacciones. Estas propiedades son especialmente relevantes en la industria farmacéutica, donde la enantioselectividad es crucial debido a que desde 1992, la Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA) y el Comité Europeo de Especialidades Farmacéuticas exigen que los fabricantes evalúen y caractericen los enantiómeros de cualquier nuevo fármaco quiral (Jaeger, *et al.*, 2000).

Alcoholes quirales en la industria farmacéutica

La biocatálisis se ha consolidado como una estrategia innovadora y sostenible para la síntesis de compuestos quirales, especialmente alcoholes quirales, que son intermediarios clave en la producción de ingredientes farmacéuticos activos (API) y otros productos industriales. Este enfoque se basa en la utilización de biocatalizadores, principalmente enzimas de origen natural, recombinante o modificado, que permiten llevar a cabo transformaciones químicas con alta selectividad en condiciones suaves, como temperaturas templadas, presión atmosférica y medios acuosos. Estas características hacen que la biocatálisis suponga una alternativa favorable frente a los métodos químicos tradicionales, que suelen requerir condiciones más severas y generan un mayor impacto ambiental. Además, la biocatálisis facilita la obtención de moléculas enantioméricamente puras, factor esencial para la eficacia y seguridad de los fármacos (Mohd Naim, *et al.*, 2024).

El desarrollo y aplicación de biocatalizadores ha experimentado avances significativos gracias a técnicas modernas como la evolución dirigida, la ingeniería de proteínas y la inmovilización enzimática, que permiten optimizar la estabilidad, selectividad y rendimiento catalítico. Esto ha permitido escalar procesos biocatalíticos para la producción industrial de más de 130 APIs aprobados y en desarrollo, demostrando su viabilidad económica y ambiental (Mohd Naim, *et al.*, 2024). A pesar de los desafíos, como la sensibilidad de algunas enzimas a solventes orgánicos y condiciones extremas, la integración de la biocatálisis en cascada y la combinación con métodos quimiocatalíticos ofrecen soluciones eficientes para superar estos obstáculos. En conjunto, la biocatálisis representa un avance crucial para la industria farmacéutica e industrial, promoviendo procesos más sostenibles, rentables y con menor impacto ambiental, y abriendo nuevas posibilidades para la síntesis de compuestos quirales complejos (Mohd Naim, *et al.*, 2024).

Materiales y Métodos

Preparación de la fuente biocatalizadora

Las semillas de frijol pinto nacional (*Phaseolus vulgaris*) se lavaron con agua destilada. Posteriormente, se desinfectaron mediante inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 5 % durante un minuto. Las semillas se enjuagaron con agua destilada, se colocaron sobre una superficie y se dejaron secar a temperatura ambiente. Una vez secas, se trituraron utilizando un molino de café hasta obtener trozos homogéneos.

Reducción biocatalítica de cetonas

Se pesaron 300 mg del frijol pinto nacional en trozo y se colocaron en un vial, se añadieron 2 mL de solución amortiguadora de fosfatos (0.15 M, pH 8.1), la cual se preparó mediante la disolución de fosfato monobásico y fosfato dibásico de sodio en agua destilada, ajustando las proporciones de ambas sales hasta alcanzar el pH deseado. Posteriormente, se agregó la mezcla de 2 μ L de la cetona aromática (correspondiente) disuelta en 48 μ L de isopropanol grado HPLC. Cada reacción se realizó por triplicado bajo las mismas condiciones experimentales. Las mezclas de reacción se agitaron durante 21 horas a 35 °C. Después del tiempo de reacción, el contenido acuoso de cada vial se transfirió a un tubo Falcon y las semillas de frijol se enjuagaron con 1 mL de agua destilada, la cual se añadió al mismo tubo. Se agregaron 0.8 mL de acetato de etilo, la mezcla se agitó manualmente durante 3 minutos ya que una agitación violenta provoca emulsión. La separación de fases se realizó mediante centrifugación a 4000 rpm, a 5 °C, durante 10 minutos. La fase orgánica se recuperó con una pipeta Pasteur y se transfirió a un tubo ensayo. El procedimiento de extracción con acetato de etilo se repitió 2 veces por muestra, en las extracciones siguientes no se añadió agua, únicamente 0.8 mL de acetato de etilo en cada ciclo. Las fracciones orgánicas se combinaron y se secaron con sulfato de sodio anhidro.

Determinación del exceso enantiomérico

Método A. Cromatografía de gases (CG)

Las fracciones orgánicas se analizaron directamente por cromatografía de gases para determinar el porcentaje de conversión de la cetona al alcohol secundario correspondiente. La cuantificación se realizó mediante la comparación de las áreas de los picos de la cetona y el alcohol, utilizando las condiciones cromatográficas específicas para cada sustrato. Los tiempos de retención y las condiciones de análisis se muestran en la Tabla 1.

Método B. Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Después del análisis por CG, el acetato de etilo se evaporó en rotavapor. El residuo seco se reconstituyó en isopropanol grado HPLC y se inyectó en un sistema de cromatografía líquida de alta resolución equipado con detector UV. La identificación de los enantiómeros se realizó mediante la comparación de los tiempos de retención con estándares enantioméricos. El exceso enantiomérico de los alcoholes se determinó empleando columnas quirales tipo OB-H, OJ-H y OD, según el sustrato analizado. Las condiciones cromatográficas y los tiempos de retención correspondientes se presentan en la Tabla 2.

Método C. Cromatografía de gases con columna quiral

La determinación simultánea de la conversión y del exceso enantiomérico se realizó por cromatografía de gases utilizando una columna quiral CP-Chirasil. Esta técnica permitió la separación de los enantiómeros de los alcoholes y el cálculo del exceso enantiomérico (ee %) a partir de las áreas de los picos correspondientes. Las condiciones cromatográficas y los tiempos de retención para cada compuesto se presentan en la Tabla 3, mientras que los cromatogramas obtenidos se incluyen en el Anexo 1.

Tabla 1. Condiciones cromatográficas para el análisis por CG

Nombre de la cetona	Horno (°C)	Flujo (mL/min)	Columna	Tiempo de retención (min)	
				Cetona	Alcohol
2-acetilpiridina	140	0.7	HP-5	3.4	3.6
3-acetilpiridina	140	0.7	HP-5	4	4.7
4-acetilpiridina	140	0.7	HP-5	3.9	4.9
2-acetiltiofeno	140	0.7	HP-5	3.9	3.6
Propiofenona	190	1	cowax	3.2	3.9
Acetofenona	180	1	cowax	3.3	4.1
2-cloroacetofenona	210	1	cowax	3.05	3.9
4-cloroacetofenona	210	1	cowax	3.2	4.6
2-bromoacetofenona	220	1	cowax	3.3	4.2
3-bromoacetofenona	220	1	cowax	3.5	5.03
3-metilacetofenona	190	1.2	cowax	2.98	3.56
4-metilacetofenona	190	1	cowax	3.5	4

Nota: HP-5 y cowax corresponden a columnas para la determinación la conversión de la cetona a su alcohol secundario correspondiente.

Tabla 2. Condiciones cromatográficas para el análisis quiral por HPLC

Nombre de la cetona	Fase móvil	Flujo (mL/min)	Columna	Tiempo de retención (min)		
				Cetona	R-OH	S-OH
2-acetilpiridina	Hex:IsopOH (91:9)	0.8	OB-H	12.2	10.6	8.88
3-acetilpiridina	Hex:IsopOH (87:13)	1	OB-H	14.2	11.01	7.01
4-acetilpiridina	Hex:IsopOH (89:11)	1	OB-H	15.9	11.05	9.02
2-acetiltiofeno	Hex:IsopOH (95:5)	1	OJ-H	9.9	14.6	11.8
Propiofenona	Hex:IsopOH (97:3)	0.8	OD	6.9	11.31	14
Acetofenona	Hex:IsopOH (90:10)	0.6	OD	8.1	4.5	10.8
2-cloroacetofenona	Hex:IsopOH (98:2)	0.6	OD	9.1	17.37	18.7
4-cloroacetofenona	Hex:IsopOH (92:8)	1	OB-H	8.5	7	6.3
2-bromoacetofenona	Hex:IsopOH (97:3)	0.8	OD	7.7	10.84	11.7
3-bromoacetofenona	Hex:IsopOH (88:12)	0.8	OB-H	10	9.7	7.5
3-metilacetofenona	Hex:IsopOH (90:10)	0.9	OD	7	14.44	12.17
4-metilacetofenona	Hex:IsopOH (98:2)	0.8	OD	6.1	14.2	10

Nota: OB-H, OJ-H y OD corresponden a columnas para la determinación del exceso enantiomérico.

Tabla 3. Condiciones cromatográficas para el análisis de conversión y exceso enantiomérico por cromatografía de gases usando una columna quiral

Nombre de la cetona	Horno (°C)	Flujo (mL/min)	Columna	Tiempo de retención (min)		
				Cetona	R-OH	S-OH
3-cloroacetofenona	135	1.8	CP-Chirasil	4.2	9.96	10.84
4-bromoacetofenona	170	0.8	CP-Chirasil	4.9	7.19	7.48
3-fluoroacetofenona	150	0.8	CP-Chirasil	3.8	4.8	5.04
4-fluoroacetofenona	150	0.8	CP-Chirasil	3.9	5.42	5.64
2-metilacetofenona	145	1	CP-Chirasil	3.6	6.4	7.1
3-metoxiacetofenona	135	1.8	CP-Chirasil	5.4	10.5	11.14
4-metoxiacetofenona	150	1.2	CP-Chirasil	6.6	8.03	8.33
2-nitroacetofenona	180	1	CP-Chirasil	5.5	6.7	7.1
4-nitroacetofenona	190	1	CP-Chirasil	4.3	7.7	8.07
3-cloropropiofenona	145	1.2	CP-Chirasil	5.6	12.1	12.7
4-cloropropiofenona	160	1	CP-Chirasil	5.3	8.6	9.03
4-bromopropiofenona	160	1.4	CP-Chirasil	5.14	8.65	9.11
4-metoxipropiofenona	150	1.2	CP-Chirasil	9	11.3	11.79
2-acetil-4-metiltiofeno	125	1.4	CP-Chirasil	6.3	10.12	10.96
2-acetil-5-bromotiofeno	160	1	CP-Chirasil	4.6	7.9	8.3

Nota: El análisis se realizó con una columna CP-Chirasil bajo las condiciones de temperatura y flujo indicadas.

Resultados y discusión

Para organizar e interpretar de manera clara los resultados obtenidos, las cetonas aromáticas evaluadas se agruparon de acuerdo con su estructura química y el tipo de sustituyente presente en el anillo. Para cada sustrato se reportan los valores de conversión y exceso enantiomérico obtenidos en reacciones realizadas por triplicado, así como el valor promedio correspondiente, empleando semillas de frijol pinto nacional (*Phaseolus vulgaris*) como fuente biocatalítica.

Las reacciones se basaron en la bio-reducción de cetonas, catalizada por enzimas reductasas presentes en las semillas del frijol, dando lugar a la formación de alcoholes secundarios quirales. De manera general, esta reacción puede representarse de la siguiente manera:

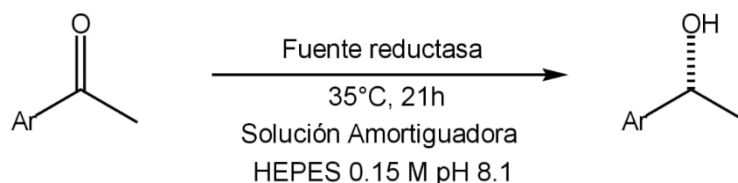


Figura 1. Reacción general de bio-reducción de cetonas aromáticas a alcoholes secundarios quirales catalizada por reductasas presentes en semillas del frijol pinto nacional.

2,3,4-Acetilpiridinas

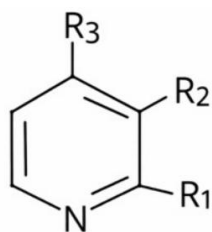
Tabla 4. Bio-reducción de acetilpiridinas con frijol pinto nacional.

Nombre de la cetona	Nombre del alcohol	Clave	Conv (%)	ee (%)
2-acetilpiridina	1-(piridin-2-il)etan-1-ol	2ACP	97.72	100
3-acetilpiridina	1-(piridin-3-il)etan-1-ol	3ACP	95.59	82.65
4-acetilpiridina	1-(piridin-4-il)etan-1-ol	4ACP	96.35	52.49

Nota: Los valores corresponden al promedio de los triplicados.

Las semillas del frijol pinto nacional mostraron una alta actividad reductasa frente a las acetilpiridinas evaluadas, evidenciando la influencia de la posición del grupo acetilo con respecto al átomo de nitrógeno del anillo piridínico sobre el desempeño catalítico (Figura 2). En todos los casos se observaron conversiones superiores al 95 %, lo que indica que este tipo de sustratos son altamente aceptados por las enzimas reductasas presentes en el frijol. La elevada conversión sugiere una adecuada afinidad enzima sustrato y una orientación favorable de la cetona en el sitio activo de la reductasa (Tabla 4).

En cuanto a la enantioselectividad, 1-(piridin-2-il)etan-1-ol presentó un comportamiento sobresaliente, alcanzando un 100 % de exceso enantiomérico, lo que indica una reducción completamente estereoselectiva. En contraste, el alcohol de 3-acetilpiridina y 4-acetilpiridina mostraron una disminución del ee%, particularmente en la posición *para*, donde el valor fue de 52.49 %. Este efecto puede atribuirse a cambios electrónicos y estéricos asociados a la posición del grupo acetilo, que influyen en el modo de unión del sustrato al sitio catalítico. Estos resultados confirman que pequeñas modificaciones estructurales tienen un impacto significativo en la enantioselectividad (Tabla 4).



2Acp- $R_1 = -COCH_3$, $R_2 = R_3 = H$
 3Acp- $R_1 = R_3 = H$, $R_2 = -COCH_3$
 4Acp- $R_1 = R_2 = H$, $R_3 = -COCH_3$

Figura 2. Estructura general de las acetilpiridinas evaluadas.

Acetofenonas halogenadas

Tabla 5. Biorreducción acetofenonas halogenadas con frijol pinto nacional.

Nombre de la cetona	Nombre del alcohol	Clave	Conv (%)	ee (%)
Acetofenona	1-feniletan-1-ol	ACFE	98	20.91
2-cloroacetofenona	1-(2-clorofenil)etan-1-ol	2CLF	92.25	47.88
3-cloroacetofenona	1-(3-clorofenil)etan-1-ol	3CLF	97.21	62.18
4-cloroacetofenona	1-(4-clorofenil)etan-1-ol	4CLF	78.17	43.25
2-bromoacetofenona	1-(2-bromofenil)etan-1-ol	2BRF	58.59	21.79
3-bromoacetofenona	1-(3-bromofenil)etan-1-ol	3BRF	95.06	60.01
4-bromoacetofenona	1-(4-bromofenil)etan-1-ol	4BRF	49.6	36.4
3-fluoroacetofenona	1-(3-fluorofenil)etan-1-ol	3FF	98.71	63.29
4-fluoroacetofenona	1-(4-fluorofenil)etan-1-ol	4FF	94.3	53.13

Nota: Los valores corresponden al promedio de los triplicados.

En la acetofenona y sus derivados halogenados, las conversiones se encontraron en un intervalo de 78.17 a 98.71 % en la mayoría de los casos (Tabla 5). No obstante, los derivados bromados en posición *orto* (2BRF) y *para* (4BRF) presentaron conversiones inferiores al 60 %, lo que sugieren una menor afinidad enzima sustrato y una orientación menos favorable de la cetona dentro del sitio activo de la reductasa, lo que limita la eficiencia de la reducción (Figura 3).

Los valores de exceso enantiomérico fueron moderados y mostraron una dependencia tanto del tipo de halógeno como de su posición en el anillo aromático. Los alcoholes de las acetofenonas fluoradas y cloradas en posición *meta* mostraron los mejores ee%, alcanzando valores de hasta 63.29 % y 62.18 %, respectivamente. En contraste, los alcoholes bromados en posición *para* y *orto* presentaron tanto conversiones como enantioselectividades menores, lo que sugiere un efecto estérico desfavorable debido al mayor tamaño del átomo de bromo. Estos resultados evidencian que la naturaleza y posición del sustituyente influyen directamente en la orientación del sustrato durante la reducción enzimática (Tabla 5).

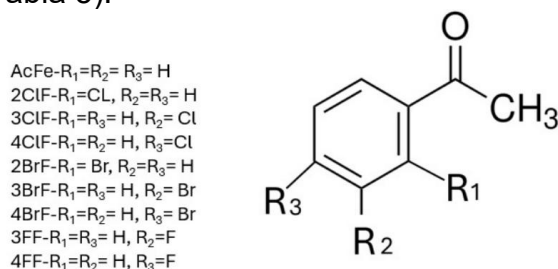


Figura 3. Estructura general de las acetofenonas halogenadas evaluadas.

Acetofenonas con sustituyentes metil, metoxi y nitro

Tabla 6. Bio-reducción de acetofenonas metiladas, metoxiladas y nitradas con frijol pinto nacional.

Nombre de la cetona	Nombre del alcohol	Clave	Conv (%)	ee (%)
2-metilacetofenona	1-(2-metilfenil)etan-1-ol	2MEF	96.38	89.07
3-metilacetofenona	1-(3-metilfenil)etan-1-ol	3MEF	85.8	20.12
4-metilacetofenona	1-(4-metilfenil)etan-1-ol	4MEF	87.48	55.23
3-metoxiacetofenona	1-(3-metoxifenil)etan-1-ol	3OMF	95.59	84.07
4-metoxiacetofenona	1-(4-metoxifenil)etan-1-ol	4OMF	12.09	42.83
2-nitroacetofenona	1-(2-nitrofenil)etan-1-ol	2NOF	86.37	86.42
4-nitroacetofenona	1-(4-nitrofenil)etan-1-ol	4NOF	44.08	39.81

Nota: Los valores corresponden al promedio de los triplicados.

Las acetofenonas sustituidas con grupos metilo, metoxi y nitro mostraron un comportamiento diferenciado durante la bio-reducción catalizada por las semillas de frijol pinto nacional, lo que evidencia la influencia tanto de los efectos electrónicos como de los factores estéricos sobre la eficiencia y selectividad del proceso (Figura 4). En términos de conversión, se observaron valores elevados para la mayoría de los sustratos, particularmente para la 2-metilacetofenona (96.38 %), la 3-metoxiacetofenona (95.59 %) y la 2-nitroacetofenona (86.37 %), lo que indica que estos sustituyentes no impiden el acceso del sustrato al sitio activo de la enzima. En contraste, la 4-metoxiacetofenona presentó una conversión baja (12.09 %), lo que sugiere que el grupo metoxi en posición *para* ejerce un efecto donador por resonancia aumentando la densidad electrónica del sistema aromático y disminuyendo la electrofilicidad del grupo carbonilo, lo que podría afectar la eficiencia de la reducción enzimática. En cuanto a la enantioselectividad, se observaron valores elevados para la 1-(2-metilfenil)etan-1-ol (89.07 %), la 1-(3-metoxifenil)etan-1-ol (84.07 %) y la 1-(2-nitrofenil)etan-1-ol (86.42 %), lo que indica una orientación preferencial del sustrato en el sitio catalítico. Por el contrario, el alcohol de 3-metilacetofenona mostró un ee% considerablemente menor (20.12 %), lo que evidencia que pequeños cambios en la posición del sustituyente afectan de manera significativa la interacción enzima-sustrato (Tabla 6).

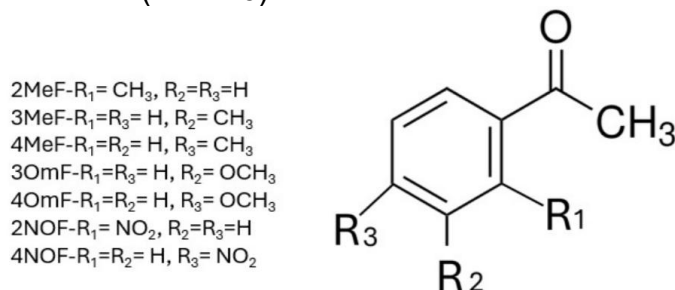


Figura 4. Estructura general de las acetofenonas sustituidas con grupos metilo, metoxi y nitro.

Propiofenonas

Tabla 7. Biorreducción de propiofenonas con frijol pinto nacional.

Nombre de la cetona	Nombre del alcohol	Clave	Conv (%)	ee (%)
Propiofenona	1-fenilpropan-1-ol	PRFE	96.48	28.99
3-cloropropiofenona	3-cloro-1-fenilpropan-1-ol	3CLP	92.26	81.25
4-cloropropiofenona	1-(4-clorofenil)propan-1-ol	4CLP	97.19	45.46
4-bromopropiofenona	1-(4-bromofenil)propan-1-ol	4BRP	84.6	55.82
4-metoxipropiofenona	1-(4-metoxifenil)propan-1-ol	4OMP	67.97	83.35

Nota: Los valores corresponden al promedio de los triplicados.

Las propiofenonas evaluadas mostraron en general altos porcentajes de conversión, con valores superiores al 84 % en la mayoría de los casos, lo que indica que este tipo de sustratos son adecuadamente aceptados por las reductasas presentes en las semillas del frijol pinto nacional (Tabla 7). Estos resultados sugieren que el aumento de la cadena lateral en comparación con las acetofenonas no impide el acceso del sustrato al sitio activo de la enzima (Figura 5).

En cuanto a la enantioselectividad, se observó una marcada dependencia del tipo de sustituyente en el anillo aromático. El 1-fenilpropan-1-ol presentó un ee% bajo (28.99 %), lo que indica una reducción poco estereoselectiva. En contraste, el 3-cloro-1-fenilpropan-1-ol mostró un comportamiento sobresaliente, alcanzando un exceso enantiomérico de 81.25 %, lo que sugiere que la presencia del átomo de cloro en posición *meta* favorece una orientación preferencial del sustrato dentro del sitio activo. Los derivados *para* sustituidos mostraron un comportamiento intermedio. El 1-(4-clorofenil)propan-1-ol y el 1-(4-bromofenil)propan-1-ol presentaron ee% de 45.46 % y 55.82 %, respectivamente, lo que puede atribuirse a un efecto estérico creciente conforme aumenta el tamaño del halógeno, el cual limita parcialmente la correcta acomodación del sustrato durante la reacción. Por su parte, el 1-(4-metoxifenil)propan-1-ol presentó un ee% elevado (83.35 %) a pesar de su menor conversión (67.97 %), lo que sugiere que el grupo metoxi favorece interacciones electrónicas que estabilizan una orientación enantioselectiva, aunque dificultan el acceso al sitio catalítico.

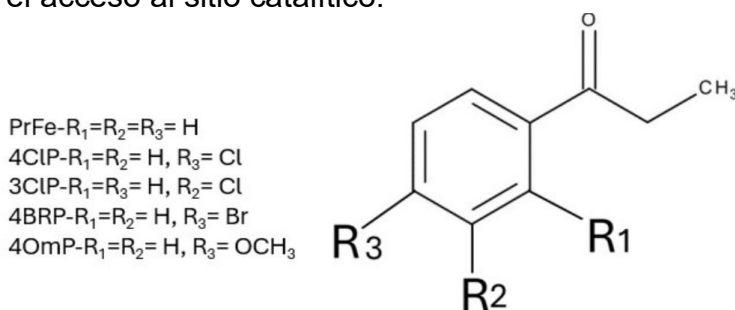


Figura 5. Estructura general de las propiofenonas sustituidas.

Cetonas heteroaromáticas derivadas de tiofeno

Tabla 8. Bio-reducción de cetonas heteroaromáticas derivadas de tiofeno con frijol pinto nacional.

Nombre de la cetona	Nombre del alcohol	Clave	Conv (%)	ee (%)
2-acetiltiofeno	1-(tiofen-2-il)etan-1-ol	2ACT	60.51	17.69
2-acetil-4-metiltiofeno	1-(4-metiltiofen-2-il)etan-1-ol	2A4T	47.45	52.31
2-acetil-5-bromotiofeno	1-(5-bromotiofen-2-il)etan-1-ol	2A5BT	48.36	2.49

Las cetonas heteroaromáticas derivadas de tiofeno presentaron conversiones moderadas, con valores entre 47.45 y 60.51 %, lo que indica que estas estructuras son aceptadas de manera limitada por las reductasas presentes en las semillas de frijol pinto nacional (Tabla 8).

Este comportamiento puede atribuirse a la presencia del átomo de azufre en el anillo heterocíclico, el cual modifica la distribución electrónica del sustrato y puede generar interacciones desfavorables con el sitio activo de la enzima. En particular, el 1-(tiofen-2-il)etan-1-ol presentó un ee% bajo (17.69 %), mientras que el 1-(5-bromotiofen-2-il)etan-1-ol mostró una estereoselectividad prácticamente nula (2.49 %), lo que sugiere una orientación poco definida del sustrato durante la reducción.

El derivado metilado, 1-(4-metiltiofen-2-il)etan-1-ol, presentó 52.31 % de ee, lo que indica que la introducción de un grupo alquilo puede favorecer parcialmente la orientación del sustrato en el sitio activo, aunque no compensa completamente el efecto negativo del átomo de azufre.

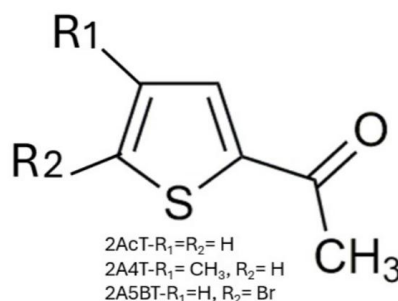


Figura 6. Estructura general de las cetonas derivadas del tiofeno.

Conclusión

Las semillas de frijol pinto nacional (*Phaseolus vulgaris*) demostraron ser una fuente biocatalítica de enzimas reductasas para la síntesis de alcoholes secundarios quirales mediante la bio-reducción de cetonas aromáticas y heteroaromáticas.

Los resultados obtenidos evidenciaron que la estructura del sustrato desempeña un papel determinante en el comportamiento de la reacción. Tanto la naturaleza electrónica como el tamaño y la posición de los sustituyentes en el anillo aromático influyeron directamente en la afinidad enzima sustrato, así como en la orientación adoptada dentro del sitio activo, lo que se reflejó en variaciones significativas en la conversión y en la enantioselectividad.

Se identificó que los mayores excesos enantioméricos se alcanzaron en sustratos con cloro en posición *meta*, metilo en posición *orto*, metoxi en posición *meta* y nitro en posición *orto*, lo que sugiere que estos grupos favorecen una orientación estereoselectiva.

En conjunto, este trabajo confirma el potencial del frijol pinto nacional como una alternativa biocatalítica sustentable y de bajo costo para la obtención de alcoholes quirales.

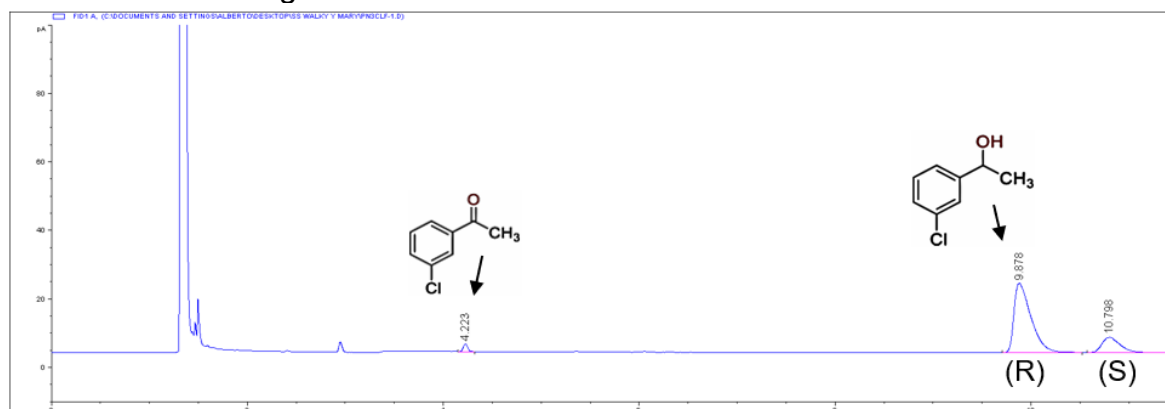
Bibliografía

1. Bizerra, A. M. C., de Gonzalo, G., Lavandera, I., Gotor-Fernández, V., de Mattos, M. C., de Oliveira, M. C. F., Lemos, T. L. G., & Gotor, V. (2010). Reduction processes biocatalyzed by *Vigna unguiculata*. *Tetrahedron: Asymmetry*, 21(6), 566–570. <https://doi.org/10.1016/j.tetasy.2010.03.005>
2. Ceramella, J., Iacopetta, D., Franchini, A., De Luca, M., Saturnino, C., Andreu, I., Sinicropi, M. S., & Catalano, A. (2022). A look at the importance of chirality in drug activity: Some significative examples. *Applied Sciences*, 12(21), 10909. <https://doi.org/10.3390/app122110909>
3. Jaeger, K. E., & Reetz, M. T. (2000). Directed evolution of enantioselective enzymes for organic chemistry. *Current Opinion in Chemical Biology*, 4(1), 68–73. [https://doi.org/10.1016/S1367-5931\(99\)00054-X](https://doi.org/10.1016/S1367-5931(99)00054-X)
4. Kannappan, V. (2024). Chirality in pharmaceuticals: The impact of molecular handedness on medicine. *Chiralpedia*. <https://chiralpedia.com/blog/chirality-in-pharmaceuticals-the-impact-of-molecular-handedness-on-medicine/>
5. Mohd Naim, M., Mohd Fazli, M., & et al. (2024). Biocatalytic approach for the synthesis of chiral alcohols for the development of pharmaceutical intermediates and other industrial applications: A review. *Enzyme and Microbial Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2024.110483>
6. Oaikhena, E. E., Ajibade, G. A., Appah, J., & Bello, M. (2013). *Dehydrogenase enzyme activities in germinating cowpea (Vigna unguiculata (L.) Walp)*. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 3(20), 32–37. <https://iiste.org/Journals/index.php/JBAH/article/view/9829/10034>
7. Rossino, G., Robescu, M. S., Licastro, E., Tedesco, C., Martello, I., Maffei, L., Vincenti, G., Bavaro, T., & Collina, S. (2022). Biocatalysis: A smart and green tool for the preparation of chiral drugs. *Chirality*, 34(11), 1403–1418. <https://doi.org/10.1002/chir.23498>

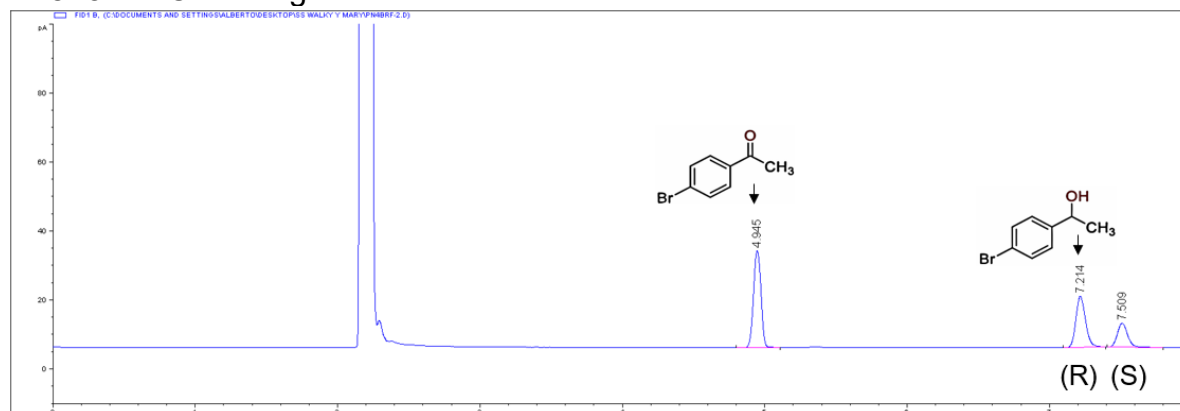
Anexos

Anexo 1. Cromatogramas utilizando la cromatografía de gases con columna quiral

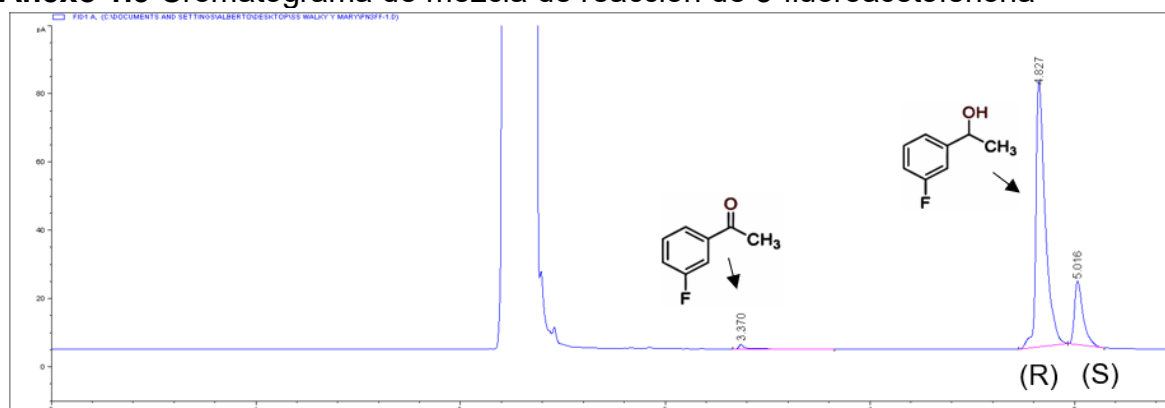
Anexo 1.1 Cromatograma de mezcla de reacción de 3-cloroacetofenona



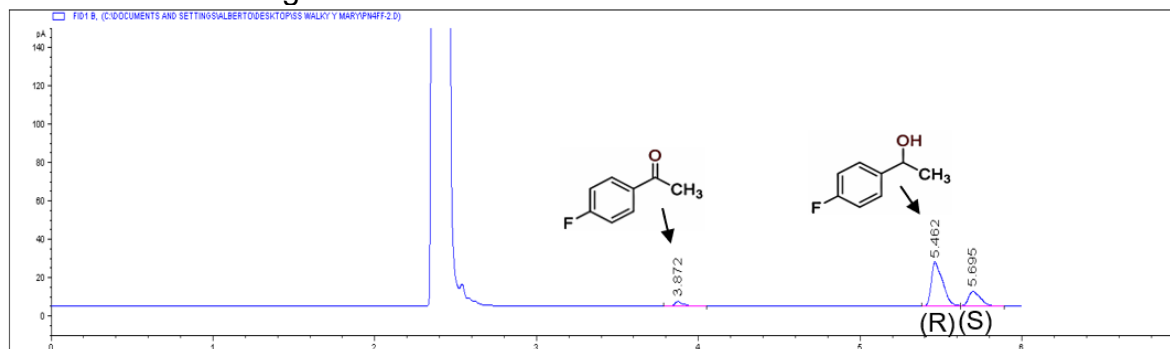
Anexo 1.2 Cromatograma de mezcla de reacción de 4-bromoacetofenona



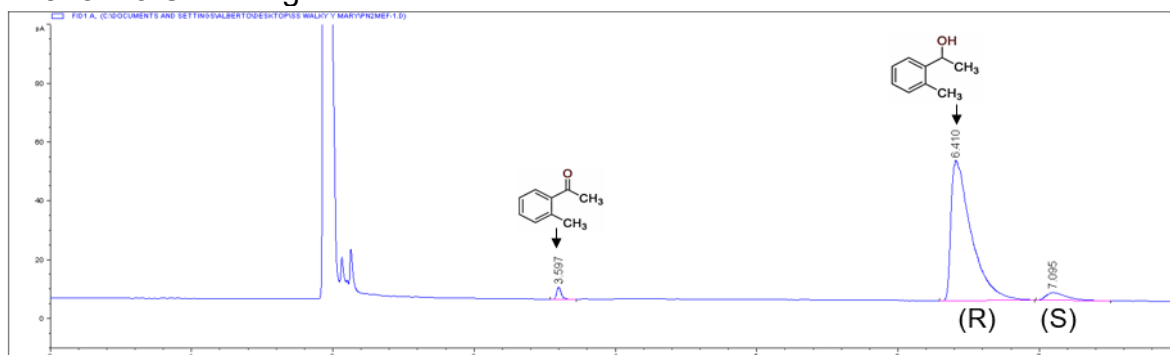
Anexo 1.3 Cromatograma de mezcla de reacción de 3-fluoroacetofenona



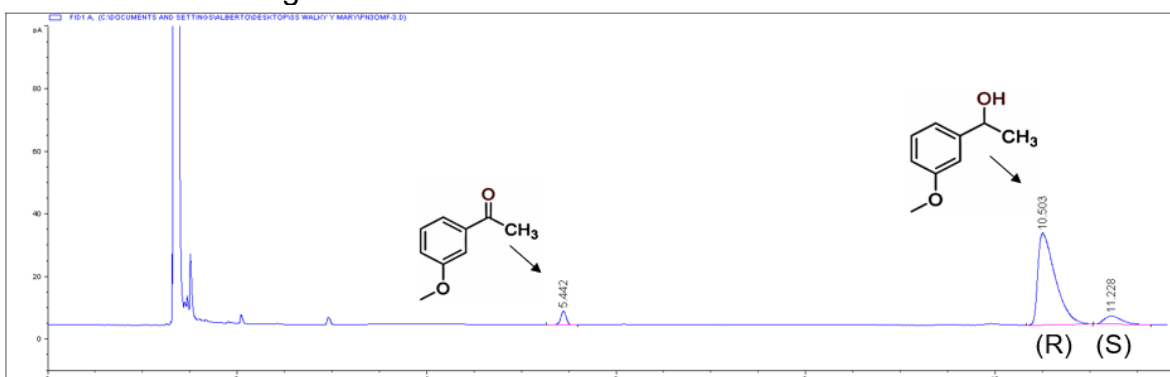
Anexo 1.4 Cromatograma de mezcla de reacción de 4-fluoroacetofenona



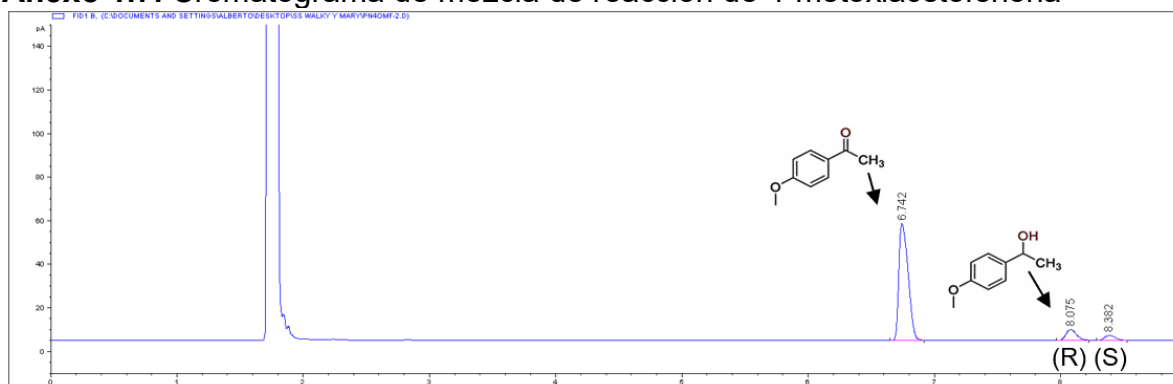
Anexo 1.5 Cromatograma de mezcla de reacción de 2-metilacetofenona



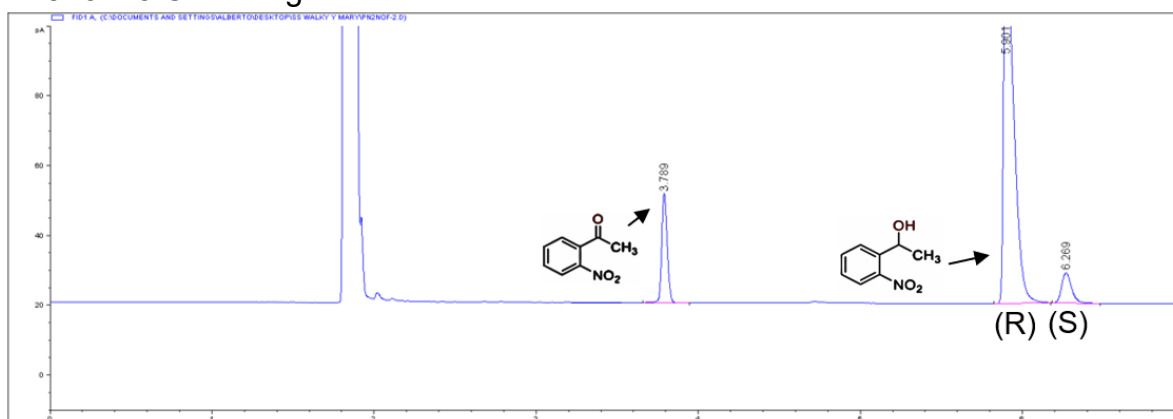
Anexo 1.6 Cromatograma de mezcla de reacción de 3-metoxiacetofenona



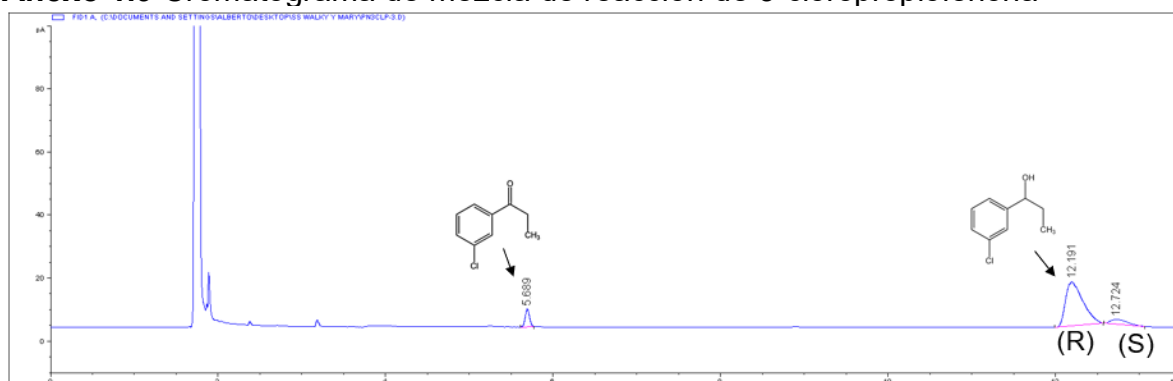
Anexo 1.7. Cromatograma de mezcla de reacción de 4-metoxiacetofenona



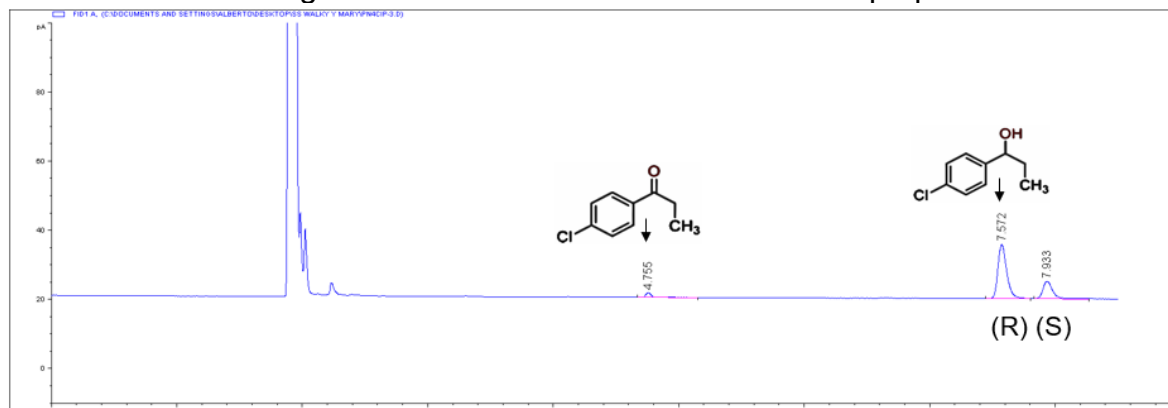
Anexo 1.8 Cromatograma de mezcla de reacción de 2-nitroacetofenona



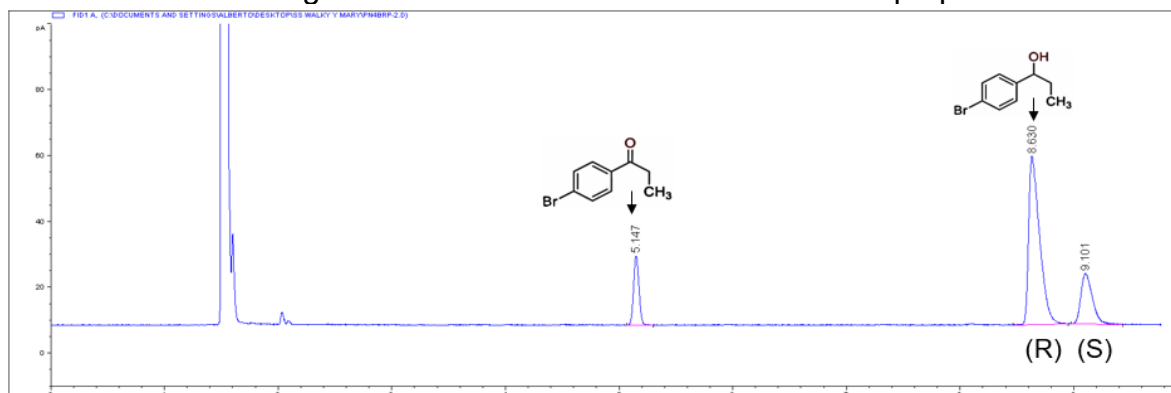
Anexo 1.9 Cromatograma de mezcla de reacción de 3-cloropropiofenona



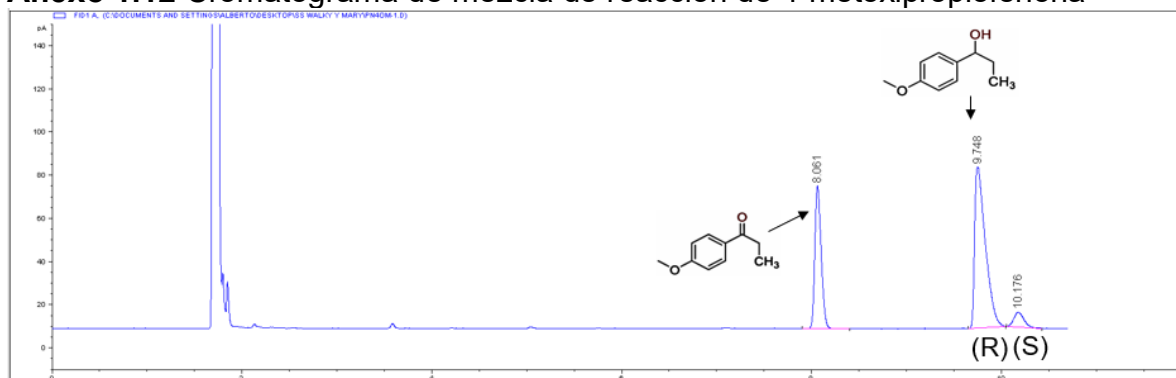
Anexo 1.10 Cromatograma de mezcla de reacción de 4-cloropropiofenona



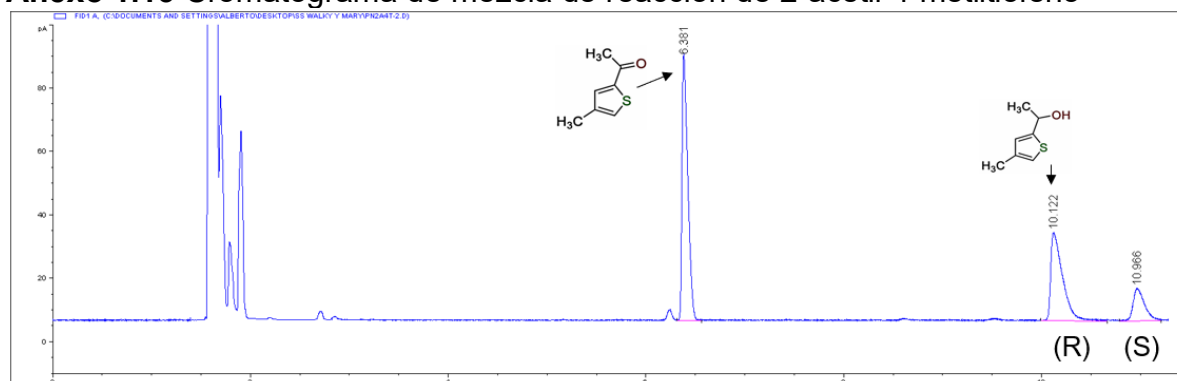
Anexo 1.11 Cromatograma de mezcla de reacción de 4-bromopropiofenona



Anexo 1.12 Cromatograma de mezcla de reacción de 4-metoxipropiofenona



Anexo 1.13 Cromatograma de mezcla de reacción de 2-acetil-4-metiltiofeno



Anexo 1.14 Cromatograma de mezcla de reacción de 2-acetil-5-bromotiofeno

