

PPCCT - 2000 Perspectiva Histórica de la Bioquímica

Ángel Martín Municio

Arbor CLXXIX, 706 (Octubre 2004), 341-364 pp.

Una de las parcelas de la sabiduría se ha atribuido tradicionalmente a la *historia* y, en la presentación del estado general del saber, se refería Bacon al *valor de la historia* de esta manera: «*Una historia correcta del saber, donde se contengan las antigüedades y orígenes de los conocimientos; sus invenciones, sus tradiciones, sus florecimientos, decadencias y olvidos, con las causas y ocasiones de los mismos, y todos los demás sucesos relacionados con el saber, a lo largo de las edades del mundo, puedo afirmar con certeza que no existe*». Con la idea, pues, de atesorar los bienes del pasado, desde hace muchas décadas, la atención de los historiadores se ha centrado en dos tipos de estudio: o bien se fija la atención en los largos periodos, los procesos irreversibles, las continuidades seculares y los movimientos de acumulación; o bien se estudia el desplazamiento de los pensamientos permanentes hacia fenómenos de ruptura, de las manifestaciones homogéneas y persistentes de las ideas y las disciplinas hacia las interrupciones y quiebras que conducen a nuevos tipos de racionalidad. Y, dentro de esta segunda opción, la historia de los conocimientos de la ciencia, en la época actual, saca a relucir –según la expresión de Foucault– *todos los erizamientos de la discontinuidad*.

Si, en efecto, ambos tipos de estudio han sido objeto de la atención de los historiadores de las ideas y de las ciencias, las grandes continuidades del pensamiento científico están en el ánimo general de las gentes de la ciencia. Los orígenes griegos y su refugio cristiano medieval, la alquimia y la ciencia árabe, el nacimiento del método científico y la desvinculación de la ciencia de sus raíces filosóficas, con sus motivaciones iniciales y sus

grandes puntos modernos de inflexión bajo la forma de las grandes revoluciones de la ciencia y la técnica – la *revolución* de la química, la *revolución* industrial, la *revolución* de la biotecnología y la *revolución* de la informática y las comunicaciones –, son algunas de las cronologías de continuidades y discontinuidades bajo las que se esconden también lentas maduraciones de los campos del conocimiento.

La noción de *discontinuidad* es un elemento fundamental de los estudios históricos, que ocurre bien de forma impensada o como fruto de la incorporación lenta de nuevas ideas y que, en ambos casos y como punto de inflexión, surge del fondo monótono de la continuidad de los acontecimientos y sobresale de los límites entre los que oscila el umbral de la acumulación estable de los datos de un determinado campo del conocimiento. Y es en ese desplazamiento de la continuidad, en la aparición de la discontinuidad, cuando se presentan los rasgos más esenciales de la historia nueva, las especificidades que nacen y las formas de relación que permanecen. Bajo estos planteamientos podemos ya referirnos tanto a la continuidad de la Química y de la Química Orgánica y a los límites del umbral de sus oscilaciones, como a las discontinuidades que sirvieron al origen de la Bioquímica; sin que ello quiera significar la existencia de límites definidos, tan innecesarios como imposibles de establecer cuando la grandes inercias creadoras de la Química y de la Química Orgánica fueron capaces no tanto de penetrar en un nuevo campo del conocimiento, aún inexistente, sino más bien de irlo creando al contacto de las cualidades y los fenómenos de los individuos y las poblaciones de seres vivos. ¿Qué fue esta creación sino el intento de comprender las bases químicas de la función celular de la digestión, la fermentación, la fotosíntesis, la contracción muscular, la visión y la herencia? Y estas bases químicas ¿no descansaron en las teorías, las prácticas, los conceptos y el lenguaje que desarrollaron, con Lavoisier y sus mitos, y entre otros, Guyton de Morveau, Dalton, Davy, Gay-Lussac, Dumas y Justus von Liebig? Y, para su construcción, ¿no sirvieron las estructuras químicas, conocidas desde el último tercio del siglo XVIII, como las de los ácidos tartárico, oxálico, láctico, úrico, cítrico, málico y gálico, la caseína, la glicerina y el ácido benzoico?

Así, puede afirmarse que la Química Orgánica nació en la revolución científica que llevó a cabo Lavoisier al establecer las estrechas relaciones entre la *combustión*, la *respiración animal* y la *producción de calor*. Relación entre los distintos fenómenos que se venía negando desde Aristóteles quien en «*De Respiratione*» (cap.III) aseguraba «...es absurdo pensar que la respiración sea una fuente de calor; no se puede creer que el fuego

interior sea suministrado por el aire inspirado y que el hombre al respirar proporcione un elemento apto para la combustión interior». Si decisivos fueron, pues, los hechos mismos de la Química, no menos trascendente fue la instauración de una nueva forma de pensamiento. Quiere ello decir que si útil tuvo que ser el descubrimiento del oxígeno y su significado en el desarrollo de la teoría de la acidez, no menor proyección habría de alcanzar la extensión de los hechos a la idea de la oxidación biológica en los seres vivos.

Seguramente que ya es bueno este momento para dejar constancia por primera vez de que, en múltiples ocasiones, los hechos de la Química Orgánica tuvieron necesidad de adaptarse a las especiales formas de pensamiento biológico para seguir siendo de utilidad en la creación del nuevo campo de conocimiento que la Bioquímica habría de suponer. Y los entresijos de estos oscuros debates, durante siglo y medio, contribuyeron espléndidamente a la historia del conocimiento y de la ciencia, y de ellos, entre luces y sombras, se fue haciendo la claridad de un maravilloso nuevo campo de saberes, que, en el último medio siglo ha fructificado en multitud de ramas, a la vez independientes y conexionadas, a la vez parte de la ciencia fundamental y de sus mejores aplicaciones a la biología humana.

Sobre la naturaleza de la materia viva

Si el incipiente nuevo campo de conocimiento que supuso la Bioquímica había de tener su génesis en la independiente maduración de la Química Orgánica y su progresiva adecuación a los modos de pensamiento biológico, tendremos ya que estar sobreaviso de que en esta interacción participaron solapantes debates intensos a lo largo del siglo XIX acerca de la *naturaleza química de los compuestos de la materia viva*, sobre las teorías de los *principios vitales*, la *estructura molecular de las proteínas*, la naturaleza de la *catálisis* y la *especificidad molecular de las enzimas*.

Dentro de estas ideas, fue así cómo en la maduración de la Química Orgánica de mediados del siglo XIX se avanza sobre bases fundamentalmente químicas. Así, Gerhardt, en 1840, dice que *las fórmulas químicas tienen por finalidad poner en evidencia, de la forma más sencilla y exacta, las relaciones existentes entre los diversos cuerpos, desde el punto de vista de sus posibles transformaciones*. Y, en 1854, Thenard, en su «*Traité de Chimie*», dice que *la investigación en química orgánica no tiene otra fi-*

nalidad que la de hacer desaparecer las fórmulas brutas y sustituirlas por fórmulas racionales. Sin embargo, la experiencia fue mostrando la existencia de compuestos con la misma composición y distintas propiedades. Uno de los más discutidos fue, sin duda, el ácido tartárico; y Berzelius, Mitscherlich, Biot, Pasteur y otros químicos, sin apenas más técnicas que la observación y la medida de algunas propiedades, la solubilidad y la actividad óptica por ejemplo, llegaron a explicar la existencia de la *isomería*. Era, sin duda, la primera correlación entre una supuesta ordenación de los átomos constituyentes, responsables de una forma geométrica externa, y las propiedades físicas y químicas de los compuestos.

A medida que avanza el siglo XIX, la Química Orgánica y la Fisiología, independientes, conocen la *química de los alimentos* y de numerosos componentes del cuerpo humano; se lleva a cabo la *síntesis de numerosos compuestos orgánicos*, se descubre por Pasteur la *asimetría molecular*; se comienza a hablar de la *digestión* haciendo uso de los términos *metabolismo*, *catálisis* y *enzima*. La Química y la Fisiología, de cada lado, continúan sujetas a los fenómenos, a las leyes y a los avances de la Química y de la Biología. De un lado, por ejemplo, al principio de Avogadro, a la teoría de la valencia y a la estereoquímica; y, de otro, a la iniciación de la teoría cromosómica de la herencia, al nacimiento de la endocrinología experimental, a la extensión de las ideas de la fermentación, al conocimiento de las bacterias, la asepsia y el origen microbiológico de muchas enfermedades humanas.

«*La Química Orgánica fundada sobre la síntesis*» fue el título de una obra clásica en la que Berthelot, en 1860, recogió y sistematizó los métodos de síntesis hasta entonces en vigor. Hacía entonces un cuarto de siglo que Wöhler había llevado a cabo la síntesis de la urea, y, con ello, la primera obtención artificial de un producto natural. Y, a partir de 1850, merecen recordarse la síntesis de la alanina por Strecker, las de la glicocola y leucina por Perkin, la de la taurina por Kolbe, la de la creatina por Volhard, la de la colina por Würtz y la del índigo por Baeyer, como ejemplos suficientes para justificar el permanente soporte de los métodos de la química orgánica en la obtención de numerosos compuestos con profunda significación biológica. Esta nueva actitud y las nuevas habilidades de los químicos orgánicos motivaron la cita de Berthelot: «*interpretar la vida a partir de las explicaciones de la química orgánica es el objeto de nuestros estudios. Tan sólo desde esta perspectiva tendremos éxito en edificar una ciencia completa y autónoma. La química crea su propio objeto y es esta facultad creativa, semejante a la del mismo arte, lo que la dis-*

tingue de las ciencias naturales o históricas». A su vez, las fórmulas desarrolladas explicaban muchos casos de isomería, pero el problema de la *isomería óptica* no se resolvió hasta 1874 –hace poco más de un siglo– en que van't Hoff y Le Bel propusieron la estructura tetraédrica del carbono, con lo que nació la *estereoquímica*. Fue el primer concepto fundado en la ordenación espacial de los átomos en la molécula e interpretaba cómo los antípodas tienen poder rotatorio óptico opuesto, aunque, obviamente, no fue posible determinar la configuración específica y la dirección de poder rotatorio. Hubo que contentarse con la convención de Emil Fischer, que afortunadamente acertó, y setenta años después, en 1951, el holandés Bijvoet consiguió su demostración experimental.

Química Orgánica y Fisiología

Entretanto, comenzaron a sobrepasarse las ideas vitalistas que, a falta de otras ventajas, pusieron las ciencias naturales sobre el tapete de las disquisiciones filosóficas, a la vez que comenzaban a ser terreno privilegiado en el que iban a nacer hipótesis, teorías y doctrinas sobre la vida y el hombre dentro de su marco, al tener lugar la introducción de la dimensión *tiempo* con la idea concomitante de dinamismo. A la vez, la *teoría de la descendencia* se iba interpretando por medio de hipótesis justificadoras de la magnitud de las transformaciones que tuvieron su centro, entrado ya el siglo XIX, con Darwin y la selección natural, y De Vries y las mutaciones. Y, de esta manera, los nacientes campos del conocimiento de la Química Orgánica y la Fisiología comenzaron a tratar áreas comunes como ocurrió con la *nutrición* que, por otro lado, eran estimulados por las necesidades sociales y sus implicaciones económicas. A este propósito hay que señalar que, en 1811, se inicia la investigación de los hidratos de carbono; el mismo año que Gay Lussac y Thénard determinaron con exactitud la composición elemental del azúcar de caña, que Chevreul diera comienzo a sus famosas investigaciones sobre las grasas, y que Berthollet midiera la cantidad de amoníaco producido en la destilación seca de la carne. En la misma época, Magendie correlacionó las propiedades químicas y fisiológicas de los alimentos, concluyendo que el nitrógeno, cuyo papel se señaló como fundamental en la vida de los animales, era de origen nutritivo.

La división de los alimentos en azúcares, grasas y proteínas, que dura hasta nuestros días, se estableció por primera vez en 1827 por el médico inglés William Prout, quien, en las *«Philosophical Transactions»* de la

Royal Society, comunicaba: «...he llegado a la conclusión de que los materiales alimenticios principales empleados por el hombre y los animales más perfectos pueden reducirse a tres grandes clases, *the saccharine, the oily and the albuminous*». Y, a la vez, comenzaba el estudio de la digestión gástrica reconociendo la presencia en el estómago de ácido clorhídrico, con lo que dio pie a los estudios sistemáticos de los alemanes Gmelin y Tiedemann acerca de la digestión. Schwann, en 1836, descubrió que el fluido gástrico contiene, además del ácido clorhídrico, otro componente digestivo al que denominó *pepsina*. Un año antes, Berzelius había introducido el término *catálisis* para significar este tipo singular de fenómenos químicos.

Desde un punto de vista histórico hay que señalar la atracción que presentaba el estudio de la *digestión*; quizás porque en aquella época, eran escasos los fenómenos biológicos con que poder contribuir a dilucidar las bases fundamentales de la vida. Así Schwann y Purkinje fueron histólogos y fisiólogos experimentales; ambos, y sobre todo Schwann, desarrollaron los detalles de la *teoría celular* de forma sistemática, a la vez que observaron la estructura granular de los tejidos animales y utilizaron la química como criterio indispensable para una explicación racional de los procesos vivientes. La sustancia presente en dichos gránulos fue denominada *enchyme – enzima* – por Purkinje en 1837, y, dos años más tarde, Schwann introdujo el término *fuera metabólica* para designar la causa desconocida responsable del conjunto de fenómenos que tienen lugar en las células. Fue esta la primera vez que se utilizó el término *metabolismo* en el sentido moderno.

No cabe duda de que en el conjunto de estas relaciones se había de encontrar el estudio de la *fermentación*. Las posiciones encontradas se mantenían, de un lado, por Berzelius y Liebig, defensores de la fermentación como simple proceso químico sin nada que ver con los procesos vitales. De otro lado, casi en solitario, Schwann describía el crecimiento de la levadura como causa de la fermentación alcohólica, extendiendo los cambios metabólicos de la levadura a todo tipo de célula viva. Y es, mediado el siglo XIX, cuando vuelven a solaparse las ramas, durante un siglo aisladas, de la Química Orgánica y la Fisiología. Esta fisiología se va a apoyar cada vez más en la teoría celular y en la química; y, simultáneamente, las ideas de la química orgánica andan a la zaga de los procesos químicos en los tejidos y órganos de animales y plantas. Sucedió, pues, que en la misma época en que la plenitud de la Química Orgánica llevaba a cabo la síntesis artificial de numerosos compuestos naturales, Hoppe-Seyler, en 1877, desechaba la diferencia entre los *fermentos organiza-*

dos –para los que se describía una función privativa en el interior de las células de levadura– y los *fermentos no organizados*, tales como la pepsina y la diastasa, a los que ya se venía conociendo como *enzimas*. La prueba experimental de tal falta de diferencia no vendría hasta finales de siglo, en 1897, en que Eduard Buchner demostró el mantenimiento de la fermentación por extractos de levadura libres de células. La fermentación se planteó, pues, en los sencillos términos de la acción enzimática y de los cambios químicos que tuvieran lugar en la célula. Y, a pesar de los zigzagueos, desde Lavoisier y Schwann hasta Pasteur y Buchner, el círculo se había cerrado con muchas partes de verdad que aportaron cada uno de los grandes protagonistas de este prolongado enfrentamiento sobre el problema de la fermentación alcohólica. Las ideas de Liebig que consideraban la fermentación como un fenómeno de naturaleza esencialmente química eran, sin duda, correctas, aunque, de otro lado, no lo fueran las explicaciones sobre la esencia misma del proceso. Pasteur no estaba en lo cierto al juzgar la fermentación indisolublemente unida a la vida del organismo; no se le puede negar, sin embargo, su aportación al papel inicial de los organismos que, fruto de su vitalidad, elaboraban los fermentos activos. Fue Traube quien intuyó como nadie la verdad: a saber, que todas las fermentaciones producidas por los seres vivos eran debidas a las sustancias – fermentos o *enzimas* – segregados por las células; aunque no fuera capaz de probarlo. Y fue necesario el método experimental de Buchner, el descubrimiento de lo que se conoció como *zimasa* para que pudieran demostrarse las partes de verdad de cada una de las hipótesis anteriores, y, a la vez, iniciarse otra andadura, la de los complejos mecanismos químicos y de la necesidad de otra sustancia dializable, estable al calor, a la que denominó *coenzima*. Denominación que, si entonces fue debida a la naturaleza desconocida de sus misteriosas funciones coadyuvantes de la fermentación, hoy, interpretada esta en todos sus detalles, se mantiene y conserva y ha extendido la denominación a todas las sustancias que, como ella, participan en los mecanismos de la acción enzimática.

Y, de esta manera, si el estudio de los procesos fisiológicos en términos de la química, haciendo uso de las leyes y los métodos de la química orgánica, originó primeramente una simple yuxtaposición de conceptos con un fuerte predominio de lo químico; esta yuxtaposición, cumplida la misión mezcladora de las nuevas áreas del conocimiento durante cerca de medio siglo, no tuvo inconveniente en engendrar un nuevo campo. Precisamente esta fácil autoconversión en un nuevo campo con un mayor equilibrio entre lo químico y lo biológico fue la característica más sobresaliente de la nueva Bioquímica en el primer tercio del siglo XX.

Hacia la madurez de la Bioquímica

En el momento de intentar establecer una frontera entre la Química Orgánica y la Bioquímica saltan a la vista los *productos naturales*, más que como límite como lugar común de ambos campos del conocimiento. Sin embargo, cuando la Bioquímica entra en su periodo de madurez, allá por los comienzos de la década de los 40, la Química Orgánica llevaba más de un siglo de aislamientos, caracterizaciones y síntesis de numerosos productos naturales, aminoácidos, azúcares, alcaloides, pigmentos e, incluso, esencias y aromas vegetales. Sin embargo, la Química Orgánica se sintió, quizás, más incapaz que ajena al enfrentamiento con los problemas estructurales de los productos naturales nacidos bajo el intenso signo de lo biológico, del tipo de las *proteínas*, los *ácidos nucleicos* y las *enzimas*; de tal forma que en los libros de Química Orgánica aún de nuestros años 60, al referirse a la importancia de las proteínas se señalaba que ello era *debido a ser una fuente de aminoácidos para los seres vivos*. Y al señalar este hecho Arthur Kornberg en una ocasión, lo comparaba con la importancia que se diera a un automóvil como única fuente de sus piezas.

Y en este intento de hacer de los productos naturales el lugar común, también natural, entre ambos campos del conocimiento, el de la Química Orgánica y el nuevo de la Bioquímica, habrá que señalar – y seguramente que extrañarse – de cómo aquellos sorprendentes químicos orgánicos, capaces de proporcionar bellísimos ejemplos a las páginas de la biología y de la medicina; tales como las de averiguar las estructuras de la riboflavina y la tiamina por Kuhn y Karrer, y Williams y Windaus; de llevar a cabo la determinación de la estructura y la síntesis de la biotina por du Vigneaud; de identificar las estructuras esteroídicas de las hormonas sexuales y de la corteza adrenal, en manos de Butenandt, Ruzicka, Kendall y Reichstein, e incluso de llevar a cabo la síntesis total de la cortisona por Sarett en 1952, y de demostrar la conversión en el hombre de colesterol en pregnandirol, que hiciera Bloch en 1945; de construir los fundamentos del complejo campo de las porfirinas por Hans Fischer; de aclarar la constitución de la tiroxina por Harington; de lograr la síntesis química de los famosos nucleótidos, del tipo de ATP y NAD, por Todd; y, algunos años más tarde, de realizar en 1973 la impresionante síntesis total de la vitamina B12 por Woodward o la mucho más reciente del taxol por Nicolau en 1994; fracasaran en su enfrentamiento con la *estructura de los biopolímeros*. Fracaso tanto más de extrañar cuanto que la química orgánica contaba ya con los recursos metodológicos sobradamente bri-

llantes y suficientes; habida cuenta, además, de la excelencia de los químicos que lo intentaron como Fischer, Abderhalden o Willstätter, entre otros.

A lo que cabe preguntarse por los motivos no demasiado normales o lógicos de este fracaso. ¿Es que ello puede tener que ver con la aceptación o no del reduccionismo de la Bioquímica a la Química?; o, sin renunciar a un reduccionismo relativo, ¿basta con aceptar para la Bioquímica un grado superior de complejidad como el que supone la interpretación molecular de los fenómenos vitales?, ¿será necesario tener en cuenta algo más del sentido de lo biológico? Manifestación sin embargo, en cualquier caso, del gran interés por lo que la Bioquímica intenta descubrir e interpretar acerca del mundo.

El sentido de lo biológico

Hace alrededor de una docena de años que, en la Medawar Lecture de la Royal Society, Karl Popper aseguró que «*la Bioquímica no puede reducirse a la Química*», dando como explicación que «*las reacciones in vitro no son lo mismo que las in vivo porque éstas tienen una finalidad*». Lo que para Max Perutz tenía un cierto tufillo de vitalismo, y mereció la replica siguiente: «*Hopkins ya probó que las reacciones bioquímicas en los seres vivos no son más que la suma de las reacciones que pueden realizarse en el laboratorio e interpretarse en términos químicos. Punto de vista que ha sido vindicado por la demostración de que los procesos fundamentales al estilo de la replicación del DNA, su transcripción al RNA mensajero y la traducción de éste en las proteínas, la transducción de la luz en energía química, y toda la serie de reacciones metabólicas, pueden ser reproducidas in vitro, sin que ni una mínima parte de sus actividades en la célula sea otra cosa que la suma de las reacciones químicas de sus partes en el tubo de ensayo. Pudiera argüirse que es la organización la que otorga la finalidad a la célula y hace que la suma sea algo más que sus partes. Siendo esto cierto, no lo es menos que la organización es intrínseca y química*». Como fruto de una conversación personal con Perutz, Popper afirmó que para él una reacción química *in vitro* es diferente de la misma reacción *in vivo* que tiene lugar con arreglo a una finalidad, de igual manera que la combustión del petróleo en un tubo de ensayo difiere de la combustión en el motor de un automóvil. Finalidad que, a mi juicio, no obsta a que los mecanismos de ambos tipos de reacciones sean idénticos y que lo que suceda en el tubo de ensayo, sin finalidad, pueda

extrapolarse a lo que ocurra tanto en un buque de guerra como en un tractor agrícola, con muy diferentes objetivos. Pero, seguramente que ni una ni otra de estas interpretaciones extremas sea satisfactoria para responder a las cuestiones de *¿por qué las herramientas y los conceptos de la química orgánica no fueron suficientes para esclarecer la estructura de las proteínas?* y *¿tendrá o no que ver con la aplicación reduccionista de la Química?*

Sucede, sin embargo, que el término *reduccionismo* puede tener toda una serie de significados y, de otro lado, no tener el mismo valor en todas las situaciones o fenómenos biológicos de diferente complejidad. De otra manera, si quizá no quepa hablar de mera *reducción* a la química de fenómenos globales como la *cooperatividad* o el sentido biológico de gran número de *estructuras oligoméricas*; con toda seguridad que no habría inconveniente en hacerlo referido a cada una de las reacciones componentes o a las situaciones parciales resultantes del despiece de la superior organización total de estos fenómenos. Lo que no quita para que estas situaciones de mayor complejidad biológica, llámense *cooperatividad*, *alosterismo*, *información* o *redes neuronales* puedan ser objeto de modelizaciones y abstracciones matemáticas –*reduccionismo* a fin de cuentas– a imitación de lo que sucede en la física.

A la vista de estas ideas, y retrocediendo de nuevo más de medio siglo, no resulta nada de extraño que la química orgánica tropezara con la averiguación de la estructura de las proteínas y con otros problemas de la naciente Bioquímica, haciendo buen uso de los métodos de la química, pero con una lógica pero significativa ausencia del imprescindible *sentido de lo biológico*. Si, en efecto, cuestiones de simple averiguación estructural química, como hubieran sido las de las *proteínas* y los *ácidos nucleicos*, no pudieron ser resueltas a manos de una química orgánica sobresaliente, debido a esa carencia de sentido biológico, ¿qué decir de aquellas otras, más ricas en esta significación biológica como las de la *naturaleza de las enzimas* y de la *catálisis enzimática*, de la propia *biosíntesis de las proteínas*, de la *fotosíntesis* o de simples *cuestiones estereoquímicas*?

Aunque referido particularmente a una de estas cuestiones no costaría mucho trabajo extrapolarlo a todas las demás. Se trata de un artículo de Primo Levi, aparecido en la revista *Prometeo*, en 1984, titulado «*La asimetría y la Vida*», en el que trata del problema de la estereoquímica, «*una silenciosa competición que dura millones de años entre las moléculas orientadas a derecha o a izquierda*», discutiendo de antípodas,

racémicos y su resolución, y concluye: «*Para mí, la noticia de la quiralidad del Universo, o solamente de nuestra galaxia, parece enigmática: ¿tiene algún sentido?, ¿cuál sería éste?, ¿a dónde nos conduciría?, ¿se trata de un juego de dados, el mismo que Einstein rehusaba atribuir a Dios? Interrogantes que, al menos, nos sitúan perfectamente ante ese sentido de lo biológico que venimos comentando y que se ha echado en falta en la solución de algunos problemas bioquímicos.*

Si, efectivamente, la interpretación en sus comienzos, allá por la segunda parte del siglo XIX, de las incipientes funciones fisiológicas que se iban describiendo, se bastaba con los conceptos que la química orgánica desarrollaba; se hizo insuficiente en algunos casos como en el de la descripción molecular de las proteínas y para cuya solución se impuso la incorporación del sentido biológico de su función y de su especificidad. Lo que no ha quitado para que hoy, una vez aclarada la responsabilidad estructural de sus actividades, la creación «de novo» de proteínas y el diseño racional de nuevas estructuras y funciones, incluso la creación de nuevos dominios de unión, pertenezcan al poderoso campo de la química de las proteínas. Más aún, que las poderosas herramientas de la química combinatoria formen parte de la proteómica, campo de conocimiento emergente para la construcción experimental y el análisis de las propiedades de las proteínas creadas.

El concepto de proteína

Una de las raíces de estos planteamientos tuvo su origen en el descubrimiento por el holandés Mulder, en 1838, en la sangre, los huevos y, obviamente, en el queso, de una sustancia con azufre, que da lugar a sales negras de plomo o de plata; lo que no ocurre tras un tratamiento con álcalis. Se dice que por sugerencia de Berzelius, Mulder denominó a esta sustancia *proteína* – la *primera* entre los materiales de la vida –, cuya presencia pudo demostrar en seguida en numerosísimas fuentes animales y vegetales. La historia relata la impresión que causó este descubrimiento en las autoridades químicas de la época, entre otros Berzelius (1779-1848), Liebig (1803-1878) y Dumas (1800-1884); alguno que otro disintiendo o acusando una profunda confusión, y otros debatiendo acerca de las prioridades del hecho experimental. A él se refirió Liebig al asegurar que *abrió un universo de nuevos descubrimientos*; lo que no fue inconveniente para que manifestase a continuación su discrepancia de la idea de *proteína* como *sustancia molecular ordinaria cuya fórmula pudiera determinarse por los métodos ordinarios de la química.*

La línea principal de investigación de Mulder se basaba en el supuesto básico de que todo fenómeno fisiológico tenía que comprenderse como manifestación de reacciones químicas ordinarias, sujetas a las leyes de la química, bajo condiciones iniciales de unión extremadamente complejas. De aquí que para evitar la presencia de productos de descomposición se instaurasen métodos de aislamiento lo más suaves posibles como la extracción con disolventes o el tratamiento con ácidos o bases diluidos. Y por medio de los análisis elementales de la época, Mulder obtuvo para la denominada *proteína* la fórmula $C_{40}H_{62}N_{10}O_{12}$. Para Liebig, sin embargo, el concepto de proteína no denotaba una molécula química definida, con constitución y propiedades propias, sino una clase de sustancias relacionadas que compartían la misma composición atómica pero no la misma distribución atómica. Según Liebig, la fácil interconvertibilidad de estas sustancias indicaba que sus átomos se encontraban muy lábilmemente unidos sin formar moléculas estables y con grandes posibilidades de redistribución como consecuencia de los procesos fisiológicos. Clase de sustancias que solamente podrían sintetizarse por las plantas y, como tales, serían incorporadas a los tejidos animales por la nutrición. Y dado que las grasas y los hidratos de carbono no contienen nitrógeno, Liebig supuso que todas las transformaciones y eliminaciones nitrogenadas habrían de tener como origen el metabolismo de las proteínas, y estableció los cálculos relativos a la composición elemental relativa de orina, urea, bilis y sangre. Y con la pretensión tanto de obviar el cumplimiento de las leyes de la química en los seres vivos como la de posibilitar las transformaciones materiales de una forma económica surgió la idea de *fuerza vital* que, heredera de la gobernabilidad universal por las leyes de la física de Newton y bajo formas diversas en manos de Hunter, Barthez, Bichat y algunos discípulos de Kant, penetró hasta buena parte del siglo XIX y habría de extenderse luego, como es bien sabido, a fenómenos del tipo de la fermentación y la putrefacción, y que tanto esfuerzo costaría desarraigar merced a la imposición de la metodología experimental.

Y, con los inevitables solapamientos de la época, el debate Mulder-Liebig se planteó en términos de enfrentamiento de posiciones lógico-empiristas frente a una argüida superioridad de los razonamientos deductivos; es decir, trataba más de un metadiscurso sobre metodología científica que de la discusión de unos u otros resultados. Mulder y sus partidarios, Berzelius entre otros, desde una posición empirista, sostenía la existencia de relaciones jerárquicas entre hechos y teorías y, así, exigía a las teorías fisiológicas un estricto fundamento sobre los hechos de la

constitución química y las propiedades de las sustancias orgánicas participantes de los procesos fisiológicos. Y Liebig, de otro lado, propugnaba seguir el método de Galileo y Newton de *resolución y recomposición*, basado en la existencia de relaciones cuantitativas invariantes en una variedad de fenómenos semejantes. Sus explicaciones de la fermentación y la putrefacción en términos de *cantidad de movimiento* eran claramente newtonianas; de la misma manera, usó la noción de *fuerza vital* en términos exclusivamente operacionales, sin referencia alguna a su naturaleza interna y a su esencia. De esta forma, Liebig pretendía superar las vacías teorías empiristas y defendía la superioridad de los métodos deductivos. Las disputas de este tipo, abundantes de otro lado en la época, tenían, sin embargo, más de persuasión retórica que de métodos racionales de decisión científica.

En 1837, en las «*Mémoires de l'Académie des Sciences*», Chevreul estableció que ningún estudio provechoso acerca de los fenómenos que tienen lugar en los organismos podría realizarse sin el conocimiento de la composición elemental y las propiedades físicas y químicas de las especies moleculares participantes. Sin embargo, mientras aceptaba la validez de este aserto para funciones del tipo de la digestión, la respiración o la excreción, guardaba ciertas reservas para otras categorías de fenómenos como el crecimiento y la regulación. La oposición antivitalista alemana se inauguró con una contribución de Schwann a la obra de su maestro y profundo vitalista Müller «*Handbuch der Physiologie*» que introdujo en Alemania el método experimental de Magendie. Schwann intentaba sustituir las explicaciones teleológicas por explicaciones físicas; para él los fenómenos de la vida se producían por fuerzas que no actuaban según una idea sino bajo las necesarias leyes de la física; lo cual sirvió a Schwann para introducir en la estructura de la materia de las células el mismo concepto de molécula definido por la química, y, por tanto, para preparar el camino químico de la bioquímica celular.

Bajo la idea de *globalidad*

En cualquier caso y ante la no aceptación primero y el olvido después de estas divergentes posiciones metodológicas de la disputa Mulder-Liebig y contando con el afianzamiento de los conceptos y los hechos de la química, la segunda mitad del siglo XIX se enfrentó porfiadamente a la caracterización de las *proteínas* y se planteó la necesidad de nuevas formas de investigación científica para hacer frente a la idea de glo-

balidad de las condiciones materiales de vida y de los conceptos de *estructura, función* y relaciones *estructura / función*. A la vez que la atención se fue desviando hacia niveles superiores de organización, bajo esta influencia se desarrollaron las sucesivas ideas de la *teoría celular* y, a su lado, las de *protoplasma* como unidad de la vida, el *modelo de cristalización* sobre el origen de nuevas células y el llamado *estado coloidal*. Entre los autores, Lehmann, Graham, Schwann y Pasteur. El *protoplasma* constituía un estado especial de la materia, entre el sólido y el líquido, al que Graham denominó *coloide*, como «*estado dinámico de la materia, mientras que el estado cristalino sería de naturaleza estática; la sustancia coloidal poseería la actividad considerada la fuente primaria de la fuerza manifestada en los fenómenos vitales*». P. Thomas, en el «*Cours de Chimie Biologique*» (1926), atribuía al estado coloidal los aspectos mecánicos del organismo y la rápida movilización de sus componentes. Y Antonio de Gregorio Rocasolano en los «*Elementos de química-física coloidal*» (1920), decía: «*...un gran número de fenómenos biológicos observados no logran interpretación satisfactoria más que si se los considera como las consecuencias de formaciones coloidales y lógicamente debe ser así ya que la materia viva es un complejo en el que predomina el estado coloidal*». Interpretación coloidal de la materia viva que, a falta de mejores argumentos y basada en teorías irrelevantes sobre adsorción y acciones superficiales en la búsqueda de relaciones estructura-función, penetró incluso en el segundo cuarto de nuestro siglo y, así, pudo contemplarse en uno de los textos clásicos de los 40, «*Outlines of Biochemistry*» de R.A. Gortner (1938), numerosas referencias a *coloides, soles y geles*, en el seno de una presentación global de la teoría coloidal. Mientras tanto, el desarrollo de la teoría estructural de la química orgánica, en manos de Pflüger, llevó a concebir el *protoplasma* como un polímero de la proteína en el que las moléculas individuales se unen a través de enlaces CN formados por reacción de los grupos carboxilo (-COOH) de una molécula y los grupos amino (-NH₂) de otra. La creación de estos enlaces daría lugar a una nueva proteína mediante la energía liberada en los procesos oxidativos del protoplasma viviente; a su vez, la rotura de los enlaces CN liberaría una energía cinética en forma de «*elevación local transitoria de temperatura*», utilizable como *calor de reacción* para procesos metabólicos. En oposición al dogma central de Liebig, Pflüger reconoció que los procesos metabólicos de grasas, hidratos de carbono y proteínas, no constituían entidades separadas sino engarzadas en el conjunto del *metabolismo intermediario*; y a la vez, llevó a cabo la contribución fundamental del establecimiento de la *respiración como actividad intracelular*.

Solapante con los esfuerzos por aclarar la naturaleza química de las *proteínas* figuró el de la *naturaleza de las enzimas* y, lógicamente, hubo de seguir semejantes etapas de esclarecimiento durante el siglo que transcurrió hasta la cristalización de la ureasa por Sumner desde la formulación del concepto de acción enzimática por Berzelius. Modo de acción de las enzimas que, a finales del siglo XIX, se encontraba aún en un estado de gran confusión. Y, aún bien entrado el siglo XX, Willstätter concluyó que las enzimas consistían de material coloidal, que no daba las pruebas de las proteínas, combinado con un grupo químicamente activo. Fodor, de la escuela de Abderhalden, asimiló las ideas y actitudes de la química coloidal e introdujo la idea de que las enzimas eran sustancias indefinidas y que bajo ciertas circunstancias exhibían la función enzimática. La cristalización de varias enzimas digestivas por Northrop incorporó la controversia de la naturaleza química de las enzimas a la de la estructura de las proteínas. Y el reconocimiento de las enzimas como proteínas bien definidas quedó unido a la investigación de las proteínas como macromoléculas bien definidas; concepto que puso fin al estéril medio siglo de biocoloidología.

Veamos como estas ideas, antes y después de Mulder, se reflejaron en algunos textos académicos a lo largo del siglo XIX y comienzos del XX.

La obra titulada «*SISTEMA DE LOS CONOCIMIENTOS QUÍMICOS y de sus aplicaciones a los fenómenos de la naturaleza y del arte*», escrita por A.F. Fourcroy, miembro del Instituto de Francia y Profesor de Química en el Museo de Historia Natural y en la Escuela Politécnica, y traducida al castellano por D. Gregorio González Azaola, se publicó por la Imprenta Real en 1808. En su artículo III recoge «*la sucesión e historia de los descubrimientos sobre la química animal*», llegando a la última época con las ideas siguientes: «*Esta última época comprende la aplicación más fácil e inmediata de las análisis a la física misma de los animales, los felices y no interrumpidos resultados de estas aplicaciones, y la verdadera existencia de una nueva clave, propia para explicar los más recónditos fenómenos de esta física, con tal que no se cese de manejarla. Esta última época debe principiar especialmente de los años 1787 y 1788, y su duración llega hasta la actualidad. En ella se encuentran las nuevas y apreciables análisis de la leche y de la sangre hechas por los ciudadanos Deyeux y Parmentier, de la sinovia y del humor de los vexigatorios por Margueron, del hígado de los pescados cartilagosos por Vauquelin, del esperma humano por el mismo químico, de la saliva por Mr. Siebold; y el descubrimiento de un nuevo ácido animal formado por la destilación, y llamado ácido zoónico por el ciudadano Berthollet (...)* Aunque no es este

lugar de hacer ver quanto han influido todos estos trabajos y descubrimientos en los progresos de la física animal y del arte de curar, sin embargo, por la simple y sucinta exposición que acabo de hacer, puede comprehenderse fácilmente quantas aplicaciones útiles han debido hacerse de sus resultados, y que ventajas ofrecen a la medicina a (...) Por desgracia el número de los que trabajan es muy corto respecto a las muchas indagaciones que exige esta parte de la química, y la infinidad de cuestiones que presenta para su resolución. Apenas la vigésima parte de todos los químicos de Europa se ha dirigido todavía hacia este objeto. ¿Qué será quando extendiéndose y vulgarizándose estas indagaciones, y precedidas del interés que deben inspirar, se vayan multiplicando; quando se establezcan hospitales destinados al intento con la actividad que pide su importancia; quando los médicos no pierdan ocasión alguna de analizar las materias morbíficas. Entonces, todas las partes hasta el día incoherentes de los nuevos descubrimientos sobre la química animal se reunirán y estrecharán por unas relaciones, que aun no podemos mas que sospechar y ver en confuso; y entonces se levantará poco a poco el monumento, para el qual nosotros solo recogemos hasta ahora los primeros materiales (...) Estoy bien convencido de que los esfuerzos de la química mudarán algún día la faz de la medicina, y que producirán en ella y en todos los ramos de la física una revolución feliz; pero esta época no ha llegado aun, y se encuentran todavía muchos vacíos para poder admitir estas novedades».

En 1862, en el vol.4 del «*TRAITÉ DE CHIMIE ORGANIQUE*» de Gerhardt se puede leer: «*La composición de las materias albuminoides es muy compleja y parece ser la misma para todos, a juzgar por los análisis realizados; al menos si se los considera desde el punto de vista de su comportamiento idéntico bajo la influencia de los agentes de transformación. No son cristalizables y dan en la combustión cantidades variables de cenizas en las que no falta el fosfato cálcico. La albúmina y la caseína, contenidas en forma soluble en los vegetales o animales, suministran cenizas abundantes en carbonatos alcalinos. Si se considera, de otro lado, que con agua acidulada o con una solución de sales se disuelven la fibrina y la caseína coaguladas produciendo un líquido que, como la clara de huevo, se coagula por el calor y desvía el plano de polarización de la luz.....se puede concluir la existencia de un principio único, un ácido débil que constituirá la albúmina, la caseína o la fibrina, según que esté o no combinada con álcalis.....Si se da a este principio el nombre de albúmina, se podrá decir que la clara de huevo y el suero, solubles y coagulables por el calor se forman de bisalbuminato de sosa; que la caseína de la leche, soluble y coagulable por el calor, representa el albuminato neutro de potasa; y que*

la fibrina es la albúmina insoluble, más o menos mezclada con fosfatos térreos».

En el vol.4 dedicado a la Química Orgánica, el «*TRAITÉ DE CHIMIE*» de Willm y Hanriot, de 1880, se dice: «*Los albuminoides están dotados de propiedades que los hacen distintos de los demás cuerpos; no son cristalizables ni volátiles, se coagulan bien espontáneamente, por la acción del calor o de ciertos reactivos; son nitrogenados y, a veces, contienen azufre y fósforo. Por el calor o por saturación con ácido acético floclula una materia albuminoidea, exenta de azufre y de fósforo, la proteína, idéntica cualquiera que fuese la materia albuminoidea de partida*».

Así pues, la disposición de las moléculas de proteínas en forma de clúster cristalinos, las *micelas*; la naturaleza no homogénea del protoplasma y la teoría de Nägeli sobre su organización jerárquica, la teoría de la catálisis de Bunsen por adsorción de moléculas sobre las superficies micelares, fueron, entre otras, hipótesis con las que se llegó a finales del siglo XIX y, en particular, al descubrimiento de Buchner, en 1897, sobre la fermentación por extractos libres de células. Y el *mito del protoplasma* fue sustituido por tres o cuatro décadas de lo que Florkin llamó, a comienzos del siglo XX, la *edad oscura de la biocoloidología*. Y, dentro de ella, sobresalen, de un lado, la *hipótesis peptídica* lanzada en 1902 independientemente por los químicos orgánicos Fischer y Hofmeister, sustentada por la síntesis de varios péptidos pequeños; y, de otro, el descubrimiento por Sumner, en 1926, de que las llamadas *enzimas* eran *proteínas*.

Ya, a comienzos del siglo XX, en 1903, el profesor don José Rodríguez Carracido, en su «*TRATADO DE QUÍMICA BIOLÓGICA*» hacía el siguiente comentario general: «*El conocimiento preciso de toda transformación material exige previamente el de las especies químicas que, reaccionando entre sí, producen nuevos cuerpos a expensas de los preexistentes sin la pérdida de un solo átomo en el cambio de sus agrupaciones, cambio que ha de puntualizarse en las ecuaciones químicas... ¿Es aplicable este criterio a las transformaciones materiales que se efectúan en los seres vivos? Hoy puede contestarse afirmativamente, atribuyendo las insuficiencias que restringen el valor de la afirmación a dificultades de técnica y de tiempo que sucesivamente se irán venciendo con el concurso del progreso científico, pero no a condiciones misteriosas en absoluto inaccesibles a todo esfuerzo del entendimiento humano*». Y más adelante, en un capítulo especialmente dedicado a los «*ALBUMINOIDES y productos de sus metamorfosis progresivas*», al establecer su concepto asegura: «*Grandes*

analogías presentan las numerosas sustancias incluidas en este grupo, y, sin embargo, su definición es tan vaga, que tiene todos los caracteres de agrupación convencional, de la que nada se puede afirmar sin advertir excepciones. Como los hidratos de carbono antes de Fischer, se estudian empíricamente desconociendo la calidad y el número de los grupos funcionales constitutivos de sus moléculas. Los albuminoides son los compuestos que forman la sustancia esencial y fundamental de la organización, por lo que se denominan también materias proteicas, como por su semejanza a la albúmina de la clara de huevo se llaman materias albuminoideas. Son compuestos generalmente sulfonitrogenados cuya composición centesimal presenta considerables variaciones. Su carácter de coloides cada vez tiene menos valor para caracterizarlos, porque dista mucho de serles exclusivo y, por otra parte, parece ser accidental, como en los demás cuerpos en que se presenta, ante las proporciones en que se va revelando como posible la cristalización de los albuminoides. Respecto a la función química, Berthelot los considera amidas complejas, y Gautier nitrilos, también complejos, pero estas opiniones son por todo extremo insuficientes para definirlos (...) La extraordinaria flexibilidad de la materia constitutiva de los organismos para responder a todas las excitaciones del medio ambiente, reside, no sólo en lo inestable de la molécula resultado de su enorme magnitud, sino también en la coexistencia de numerosos grupos funcionales, que siempre han de presentar un punto de ataque a cualquiera de las acciones físico-químicas que sobre ellas incidan. Como el proceso biológico es resultante de acciones mecánicas, físicas y químicas, la doble escala progresiva y regresiva de los albuminoides es la síntesis de toda la Química. Siendo hoy indefinibles en los términos precisos de las especies químicas de función determinada, se expondrán como reveladoras de su especial fisonomía, por decirlo así, los caracteres generalmente utilizados para distinguirlos».

Al describir el apartado correspondiente a la «Constitución de los albuminoides», Carracido afirma: «Las diferencias correspondientes a las varias reacciones coloridas indican lo numerosos y variados que son los grupos moleculares integrantes de las multiformes materias proteicas, y explican las dificultades que presenta el discernir los eslabones de su enmarañada cadena, la cual, además, es tan delicada que los reactivos químicos, aun los de menor energía, no obran como escalpelos que diseccionan sus moléculas, sino como hachas que las destrozan». Y acerca de su magnitud molecular dice: «Para la resolución de este problema se han ensayado los procedimientos físicos, y principalmente el crioscópico; pero los resultados presentan tantos motivos de incertidumbre, que, no obstante su

indeterminación, sólo se toman en cuenta las magnitudes calculadas por los datos químicos. Lieberkühn, refiriendo a 1 átomo la proporción centesimal de azufre y corroborando este dato con el del análisis de un albuminato potásico, estableció el número 1612 como peso molecular de la albúmina, representándola por la fórmula $C_{72}H_{112}N_{18}O_{22}S$, la cual indudablemente es muy baja, pero todavía se usa en las ecuaciones bioquímicas cuando se expresan metamorfosis de la albúmina, en las que, por no ser necesario, o por ignorancia del proceso, sólo se simbolizan las relaciones cuantitativas que manifiestan la persistencia del peso de la materia transformada». Apartado que concluye con el comentario: «De todo lo expuesto se infiere que las moléculas albuminoideas son desmesuradas; pero que la determinación precisa de sus magnitudes dista mucho de verse realizada, y, por consiguiente, que falta el primer dato para el estudio sistemático de sus transformaciones, que es el conocimiento de las especies químicas».

Y no deja de ser digno de mención el comentario con que Carracido comienza el capítulo titulado «Formación de los albuminoides»: «A las plantas que tienen clorofila les bastan sustancias minerales para su alimentación, y con ellas fabrican todos sus principios inmediatos, incluso los complicadísimos albuminoides. ¿Cuál es el mecanismo de esta asombrosa síntesis? La observación minuciosa de las condiciones en que la vida los elabora es la que puede dar la respuesta, pero antes de exponer los resultados obtenidos por este medio conviene anticipar para el mejor conocimiento de la índole del problema las tentativas de la experimentación en su afán de reproducir la obra de la Naturaleza». Y en cuanto a estas tentativas de formación artificial hay que subrayar la comunicación de Liebfeld al Congreso de Química aplicada, en 1898, acerca de la formación de productos con caracteres albuminoideos por condensación de fenol y ácido aminoacético en presencia de oxiclóruo de fósforo. Lo que contó con la oposición de los químicos como Williamson y Pickering, al señalar la presencia de las reacciones coloreadas de los albuminoides en muchos productos de condensación a partir de tirosina, indol, biuret y otros derivados.

El confuso concepto de las *proteínas*

En la segunda edición, de 1917, del Tratado de «QUÍMICA ORGÁNICA aplicada a las Ciencias Médicas», el profesor don Obdulio Fernández recoge ya una serie de reacciones coloreadas al estilo de la *reacción de*

Millon, la reacción xantoproteica y la reacción del biuret. Pero, sobre todo, describe ya los trabajos de Haberman, Schützenberger y Fischer, de hidrólisis de los albuminoides en distintas condiciones experimentales. De los resultados obtenidos por Fischer se deduce que los albuminoides están formados por amino-ácidos, pero no sueltos, sino agrupados, constituyendo las sustancias que este investigador llama polipéptidos, muy semejantes a las peptonas. Estos polipéptidos pueden obtenerse sintéticamente, sometiendo los ésteres de los amino-ácidos a la acción del calor e hidratando después el compuesto resultante para formar un dipéptido.....y éste, convertido en cloruro de ácido por el pentacloruro de fósforo se hace reaccionar de nuevo con otro amino-ácido.....y uniendo amino-ácidos de esta forma se obtienen los polipéptidos más complicados».

En el capítulo «*FERMENTOS*» se puede leer: «*Los fermentos son figurados (seres vivos) a amorfos (polvo extraído de plantas o de animales capaz de realizar las mismas transformaciones que el fermento figurado). Estas transformaciones se efectúan por catálisis; es decir, que el fermento queda intransformado a pesar de contribuir a la aceleración del proceso transformador. La naturaleza química de los fermentos amorfos es todavía un problema sin resolver; hay algunos que tienen caracteres de albuminoides y otros no llegan a contener nitrógeno en su molécula; mas como producen en su desdoblamiento hidrolítico una pentosa, hase creído que tienen la composición de una pentosana. Y estas diferencias son tanto más de advertir, cuanto que los fermentos que efectúan transformaciones iguales, ofrecen mayor disparidad en su composición química; tala es el caso de las oxidasas. Los fermentos albuminoideos, dicen serios investigadores, son análogos a las peptonas, salvo el carácter de no dializar como hacen estas sustancias».*

A la vista de estos cuantos retazos que evidencian la confusa situación de las *proteínas* aún durante el primer cuarto del siglo XX, la *hipótesis peptídica* de Fischer era el único fundamento químico sobre el que elaborar el fantástico cuerpo de doctrina de las décadas siguientes. Durante casi un siglo, desde 1820 a 1918, con diferentes técnicas de hidrólisis se fueron sucesivamente aislando e identificando cada uno de los aminoácidos constituyentes de las proteínas. El problema quedó, pues, planteado acerca del modo de asociación de los aminoácidos en la estructura de las proteínas, y de todas las teorías que se propusieron únicamente la *teoría peptídica* se constituyó en paradigma de todos los estudios que habían de conducir al reconocimiento de las proteínas como *macromoléculas bien definidas*. A este reconocimiento contribuyeron especialmente las ideas y métodos de Staudinger y Svedberg en la década

de los 30. Lo que no quita para que las ideas sobre las macromoléculas de Staudinger, como profesor de Química de la Universidad Técnica de Zurich primero y de Freiburg después, fueran objeto de todo tipo de objeciones y enfrentamientos. Algunos de los consejos que recibió eran del siguiente tipo: «*Por encima de un peso de 5000 no existen las moléculas orgánicas*», «*no existen moléculas orgánicas con más de 40 átomos de carbono*», «*las moléculas no pueden tener un tamaño superior al de una celdilla cristalográfica unidad*», y otras sugerencias por el estilo. Lo que, en una cierta tormentosa reunión científica en Zurich, le hizo repetir las palabras de Lutero: «*Aquí estoy, no puedo hacer otra cosa*». Y fue así como 33 años después de la introducción de la idea y el término de *macromolécula*, Staudinger recibió el Premio Nobel de Química 1953.

Los estudios sobre presión osmótica de Adair, de su comportamiento como electrolitos por Cohn, de homogeneidad en campos eléctricos por Tiselius y en campos centrífugos por Svedberg, contribuyeron eficazmente a demostrar la homogeneidad o heterogeneidad de las preparaciones de proteínas y a introducir el concepto de *microheterogeneidad* como series heterogéneas de moléculas semejantes aunque no idénticas.

La unificación biológica de las ideas

Desvanecidas las doctrinas vitalistas y los conceptos pseudocientíficos de la biocoloidología que habían llenado casi un siglo de especulaciones; afirmado el concepto físicoquímico de *macromolécula*; y fortalecida la hipótesis química de la *teoría peptídica*, faltaba un *argumento profundamente biológico* en el que se engarzaran tanto los *principios estructurales* de la *especificidad funcional* de las proteínas como los *esquemas de biosíntesis* que los hicieran posibles; y, a su lado, los conceptos y los métodos adecuados para su investigación de los años 40, basados fundamentalmente en las técnicas isotópicas y en los variados procedimientos cromatográficos. Y para situarnos correctamente en el tiempo de estos hechos, recordemos que era *ya* la década de los 50, comenzaba el último medio siglo, cuando Pauling, en los «*Proceedings of the National Academy of Sciences*», extrapolaba a las estructuras de las proteínas tanto las configuraciones helicoidales de las cadena deducidas de las distancias interatómicas, los ángulos de enlace, la coplanaridad del sistema amídico y otras propiedades de los polipéptidos sintéticos, como sus precursoras ideas de la estabilización de la estructura de las macromoléculas por los enlaces de hidrógeno; y cuando, exactamente en 1952, la filigrana ex-

perimental químico-enzimática de los trabajos de Sanger sobre la insulina probó definitivamente la teoría peptídica. Pero, era *todavía* tiempo en el que la biosíntesis del enlace peptídico se buscaba a través de la reversibilidad de la hidrólisis enzimática y del desplazamiento del equilibrio por variación de las propiedades físicas de los productos sintetizados. Y, aunque cada vez más cercano, seguía faltando el *argumento biológico unificador de ideas*. Quizás, la etapa definitiva surgió del conocimiento de la estructura y función de los *ácidos nucleicos*; a propósito de lo que cabe señalar que si la previa experiencia química y metodológica sobre la estructura de las proteínas pudo ser de cierta aplicación al conocimiento de los ácidos nucleicos, tuvieron que ser su nativa heterogeneidad de composición, tamaño y secuencia de bases, y su relación con la biosíntesis de las cadenas polipeptídicas, los conceptos moleculares, iniciales soportadores de la *idea biológica* de la *conexión de la información contenida en el material genético y la especificidad secuencial de las proteínas*.

A la maduración de la idea, aparte de la corta hipótesis del *tetranucleotido* como unidad repetitiva de la estructura de los ácidos nucleicos deducida de los datos iniciales de composición de bases, contribuyó una colección de aportaciones como la síntesis orgánica de ésteres fosfóricos, la idea de derivados fosfóricos con elevadas energías libres de hidrólisis, la *activación* química de los grupos carboxilo y en consecuencia de ácidos orgánicos y de aminoácidos, la averiguación de la estructura de la coenzima A y la introducción del concepto de *activación biológica*, la extensión de las técnicas de difracción de rayos X, y la correlación entre la cantidad de RNA y la velocidad de síntesis de proteínas. Aportaciones desde el lado de la química, que se completaron con la utilización de tejidos, células y preparaciones del fraccionamiento celular para investigar el metabolismo intermediario y la incorporación de aminoácidos con las nuevas técnicas isotópicas.

Y, a todo esto, nos encontramos en los años 50, la década más fructífera en la aparición del fantástico campo independiente del conocimiento que supuso la Bioquímica. A partir de este momento, toda esta magnífica integración de conceptos y de técnicas sirven ya a las propias circunstancias bioquímicas, con las tendencias o soportes que siempre tendrán hacia lo biológico o hacia lo químico: de un lado, al descubrimiento de los diferentes RNAs, las implicaciones genéticas del DNA, la correlación DNA-proteínas y el origen del código genético. Y del otro, la interpretación de los numerosos mecanismos de isomerización, condensación y transposición; la aromatización, desaromatización y rotura de los anillos aromáticos; la apertura de ciclos; las reacciones de activación de fragmentos de

1C, 2C y 5C; la degradación C a C de las complicadas estructuras de esteroides, porfirinas y corrinas; las reacciones de polimerización a melamina o caucho; y a no dudar la síntesis química de oligonucleótidos, decisiva en la averiguación del código genético.

La nueva concepción de la Bioquímica

Porque fue también por estos años de la nueva concepción bioquímica en los que, como en el caso de la estructura de las proteínas, se resolvieron problemas enmarañados entre las ideas exclusivamente químicas. Me refiero al concepto de estereoquímica modulado bioquímicamente por el mecanismo de la *catálisis enzimática* y la elaboración de la idea del *complejo enzima-sustrato*, que sirvieron para confirmar la presencia en el ciclo tricarboxílico del *ácido cítrico* –molécula simétrica, con plano de simetría y ópticamente inactivo, desde un punto de vista exclusivamente químico orgánico– y que tantas dudas ocasionó ya que un compuesto simétrico no podría ocasionar un producto de su transformación asimétrico. Ocurrió, como ahora es bien sabido, que los carboxilos en las posiciones 1 y 5, aunque químicamente iguales no lo eran desde el punto de vista estereoquímico en su interacción enzimática. De igual manera, el *glicerol* posee, para la química orgánica, dos grupos hidroxilo primarios químicamente iguales en los carbonos 1 y 3, si bien no lo son desde el punto de vista de la *estereoquímica enzimática*, y existen enzimas con ciertas especificidades para uno sólo de los hidroxilos primarios. De esta manera, al esterificarse solamente uno de los grupos hidroxilo primarios del glicerol o si se esterifican ambos con ácidos grasos diferentes, se destruye el plano de simetría y el átomo de carbono central adquiere quiralidad. Hecho que interpreta la gran variabilidad en la composición posicional de los triacilglicérols de diferentes orígenes.

Finalmente, otra situación a la que la naciente Bioquímica aportó ideas originales para solucionar los tropiezos iniciales de la química orgánica se refiere a la interpretación de las *transformaciones químicas de la fotosíntesis*, principalmente en su etapa inicial de fijación de CO_2 . La obtención inicial de los compuestos C-3 isotópicamente marcados tras la fijación de $^{14}\text{CO}_2$ parecía indicar la necesidad de un precursor C-2 que los insistentes empeños de la química orgánica nunca lograron identificar. Tras numerosos intentos, tuvo que imponerse en la búsqueda de este mecanismo, como en los casos anteriores, una especie de liberalización en-

zimática de las reacciones químicas y en lugar del C-2 encontrar un C-5, escindible en 2C-3, tal y como hoy se estudia en los libros de texto.

En efecto, mucho de lo que hoy aprendemos y aceptamos, con frecuencia sin el menor resquemor crítico, ha tenido su más o menos importante proceso histórico de esclarecimiento, esos erizamientos de la discontinuidad. Son lecciones de la historia, que si decisivas en la evolución descriptiva del conocimiento, no dejan de serlo menos como permanentes alertas y enseñanzas del espíritu humano.