

Imanol Tellitu
University of the Basque Country
(UPV/EHU)

Química Orgánica en Biociencias

Material de apoyo

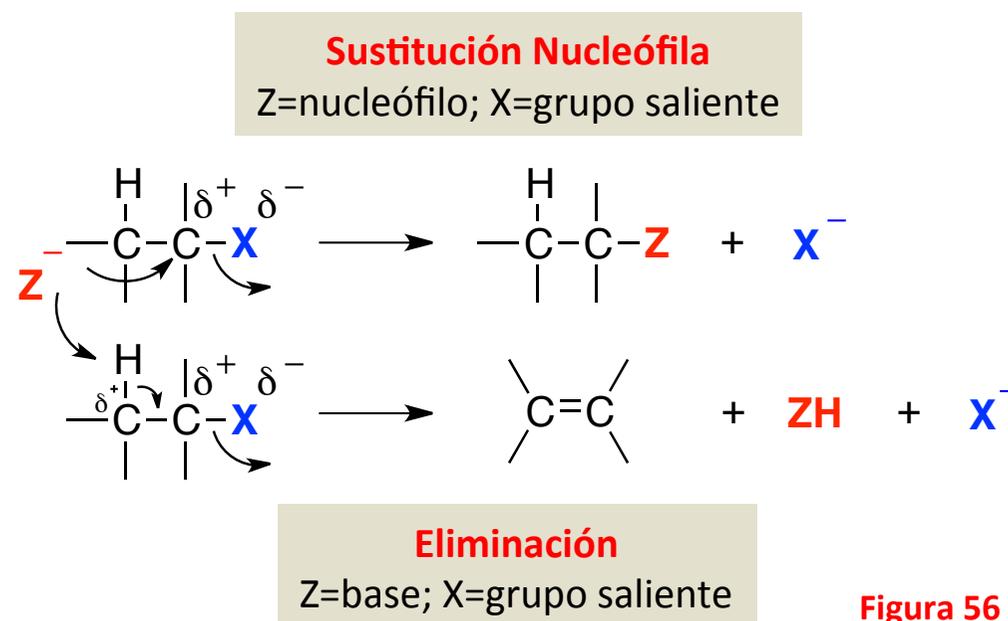
Tema 5: Reacciones de sustitución en sistemas biológicos

- | | |
|---|------|
| 5.1. Mecanismos S_N2 y S_N1 | (60) |
| 5.2. Procesos S_N2 . Generalidades | (62) |
| 5.3. La reacción de metilación en sistemas biológicos | (64) |
| 5.4. Formación y ruptura de éteres | (66) |
| 5.5. La reacción de sustitución nucleófila intramolecular | (69) |
| 5.6. Epóxidos como compuestos electrófilos, esterilizantes y carcinógenos | (74) |

Tema 5: Reacciones de sustitución en procesos biológicos

5.1. Mecanismos S_N2 y S_N1.

Existe una serie de grupos funcionales cuya reactividad está muy determinada por la polaridad del enlace sencillo que une un carbono con el heteroátomo que forma parte de ese grupo funcional (C–X en la figura). Entre ellos destacan los derivados halogenados (X=Hal), los alcoholes (X=OH) y los éteres (X=OR). La polaridad de ese enlace deja un déficit de carga (δ^+) sobre el carbono que, a su vez, lo transmite a su posición adyacente haciendo que el hidrógeno situado sobre él (si existe) tenga una acidez acrecentada.



En este escenario, un reactivo (Z) que acumule carga (aniónico o con pares de electrones sin compartir), es decir, un **nucleófilo**, puede unirse al carbono **electrófilo** si éste, para mantener su tetravalencia, se desprende de un sustituyente (X) (**grupo saliente**). Alternativamente, Z podrá actuar como una **base** abstrayendo un protón y generando un doble enlace C=C por desplazamiento, una vez más, del grupo saliente X. Al primer proceso lo llamaremos **Sustitución Nucleófila** y al segundo, **Eliminación** (Figura 56).

Tema 5: Reacciones de sustitución en procesos biológicos

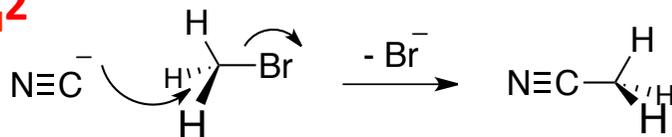
5.1. Mecanismos S_N2 y S_N1.

En particular, la reacción de sustitución nucleófila es una de las más versátiles en síntesis orgánica por la diversidad estructural de los diferentes tipos de nucleófilo de los que disponemos. Entre ellos podemos destacar los basados en hidrógeno (hidruros), en carbaniones (reactivos organometálicos, enolatos), en otras especies carbonadas (cianuro, enaminas, enoles), basados en nitrógeno (aminas, azidas, ftalimidias), en azufre (tiolatos, tioureas, bisulfitos), en haluros, en fósforo (fosfinas) o en oxígeno (alcóxidos, agua, alcoholes, carboxilatos).

Desde el punto de vista mecanístico la sustitución nucleófila alifática puede describirse a través de dos procesos diferenciados, uno concertado (S_N2) y otro iónico (S_N1) que toman el nombre de la molecularidad del estado de transición en la etapa limitante del proceso. La Tabla 2 resume las características propias de estos dos mecanismos.

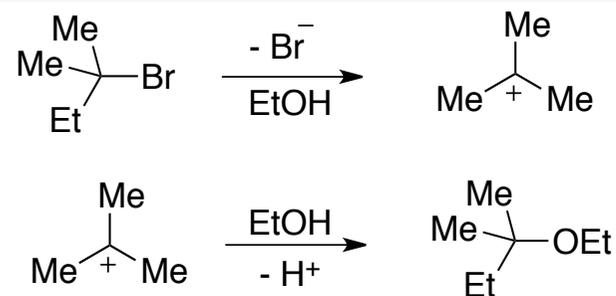
Tabla 2. Características de los mecanismos S_N2 y S_N1

S_N2



Mecanismo: concertado
Cinética: bimolecular
Nucleófilo: anión cianuro
Electrófilo: bromometano
Grupo saliente: anión bromuro
Producto: acetonitrilo

S_N1



Mecanismo: iónico
Cinética: unimolecular
Nucleófilo: etanol
Electrófilo: 2-bromo-2-metilbutano
Grupo saliente: anión bromuro
Producto: 2-etoxi-2-metilbutano

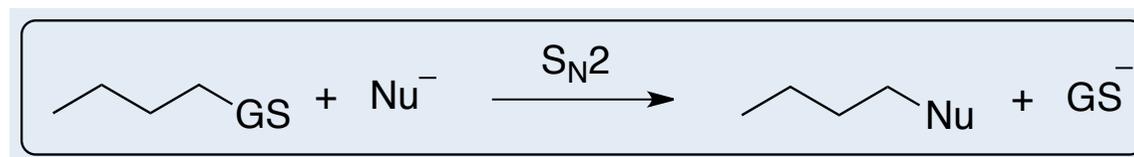
Nota: se recomienda acudir a textos sobre “Química Orgánica General” para una descripción mecanística más detallada.

Tema 5: Reacciones de sustitución en procesos biológicos

5.2. Procesos S_N2. Generalidades.

La primera de las dos reacciones de la figura anterior constituye un ejemplo sencillo de cómo un grupo metilo puede transferirse a un nucleófilo, en este caso a un grupo cianuro. Existen varios parámetros estructurales y experimentales que han de considerarse para valorar la eficacia de esta transferencia (*). Aquí únicamente nos ocuparemos del papel que juega el grupo saliente como facilitador de esta transformación y lo compararemos en un entorno químico y otro bioquímico.

Dado que el grupo saliente en un proceso de sustitución es expulsado con carga negativa (comúnmente) o con un par de electrones no enlazantes sin compartir, es de esperar que los mejores grupos salientes sean aquéllos que mejor estabilicen esa carga. Es decir, los mejores grupos salientes (GS) serán las bases más débiles (Figura 57).



GS = OTs (60), I (30), Br (10), Cl (0.2), F (0.001), OH, OR, NH₂ (≈0)

Figura 57. Valores relativos de velocidad de reacción para un mismo sustrato con diferentes grupos salientes

Si disponemos de un sustrato que porte un mal grupo saliente, y pretendemos realizar una reacción de sustitución sobre él, es muy conveniente introducir una etapa previa de transformación de ese grupo saliente en otro mejor. La Figura 58 ilustra esta idea proponiendo cuatro alternativas a partir de un alcohol, un grupo funcional de características pobres como grupo saliente pero que, a la vez, es muy habitual en un sinfín de compuestos orgánicos y biomoléculas.

(*) Nota: se recomienda acudir a textos sobre “Química Orgánica General” para una descripción más detallada.

Tema 5: Reacciones de sustitución en procesos biológicos
5.2. Procesos S_N2. Generalidades.

1. Por halogenación con PBr₃: pasamos de un alcohol a un bromuro.
2. Por protonación con ácido sulfúrico: ahora será agua el grupo saliente.
3. Por tosilación con TsCl: pasamos de un alcohol a su tosilato.
4. Por fosforilación con H₃PO₄: pasamos de un alcohol a un éster fosfórico.

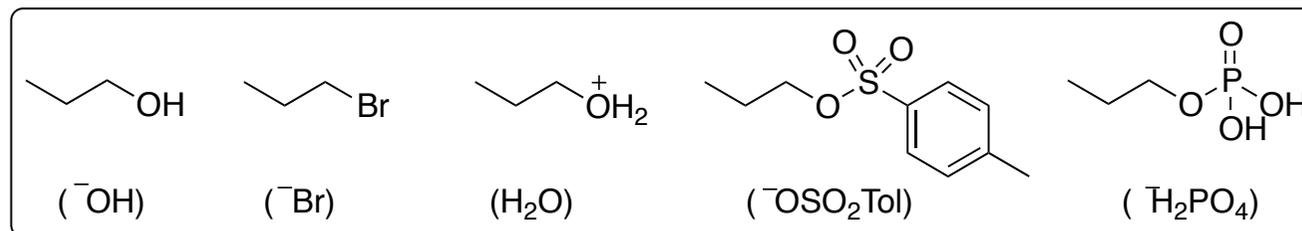
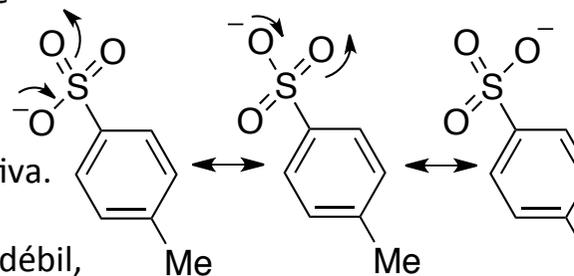


Figura 58. Aumento de la habilidad del grupo destacado como grupo saliente

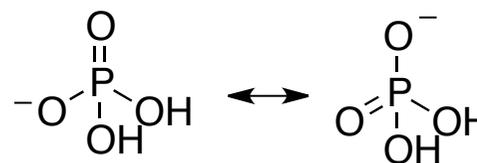
El anión hidróxido es un mal grupo saliente (como también lo sería un anión amiduro derivado de una amina). Las bases relativamente fuertes no tienen capacidad para estabilizar una carga negativa.

El anión bromuro es una base mucho más débil, luego su capacidad como grupo saliente aumenta respecto al alcohol.

La protonación del grupo hidroxilo implica que ahora el grupo saliente sea desplazado en forma neutra (agua), es decir como una base débil. Será mucho mejor grupo saliente que los anteriores.



Aunque la previa tosilación del alcohol vuelva a ocasionar que el grupo saliente sea desplazado como un anión, la carga negativa sobre éste estará muy deslocalizada por resonancia, luego se comportará como una base extremadamente débil.



Idéntico resultado obtendremos si fosforilamos el alcohol de partida (Figura 59).

Figura 59

La fosforilación es precisamente la alternativa por la que ha optado la Naturaleza para favorecer los procesos de sustitución nucleófila. En la Figura 60 se muestra de modo simplificado cómo un grupo metilo es transferido a un nucleófilo (Nu) a partir de metanol trifosforilado. Son varias las circunstancias que se reúnen para que el proceso pueda ocurrir con suma facilidad:

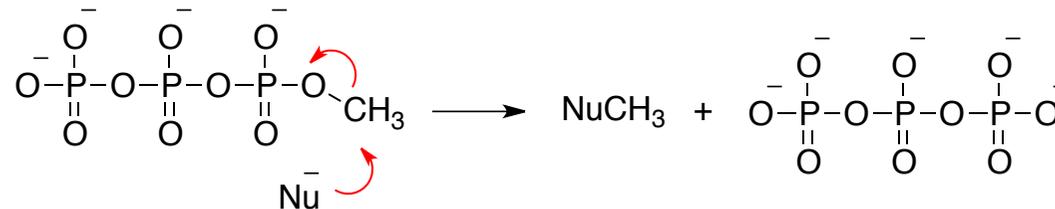


Figura 60

- (1) Un grupo metilo (o incluso un grupo CH₂) es, desde el punto de vista estérico, muy accesible, por lo que la aproximación del nucleófilo al centro de reacción está muy facilitada.
- (2) Si empleamos un nucleófilo aniónico, no neutro, la interacción electrostática con el carbono metílico electrófilo se potenciará.
- (3) En el balance final el grupo saliente es desplazado como anión trifosfato, una base cuyo carácter extremadamente débil (las cargas negativas están muy deslocalizadas por resonancia) explica su excelente comportamiento como grupo saliente.

La relación entre el ejemplo anterior y la molécula de ATP es obvia. Más en concreto, el aminoácido metionina, actuando como nucleófilo, puede atacar al grupo metileno (electrófilo) del nucleótido liberando anión trifosfato (grupo saliente). El resultado final (Figura 61) es la producción de SAM (S-adenosilmetionina) que, como veremos en el ejemplo siguiente, actúa como agente metilante.

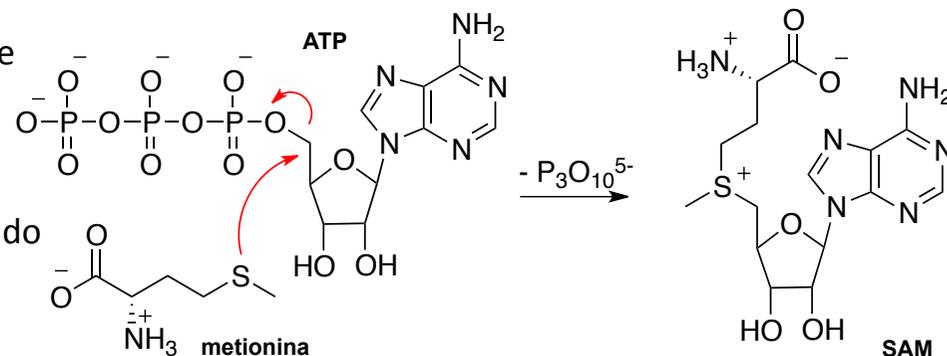
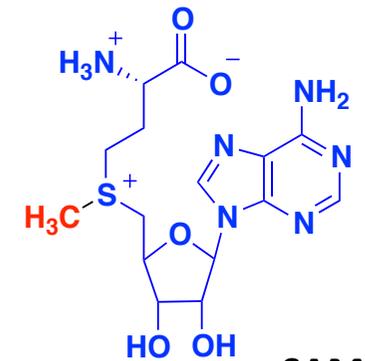


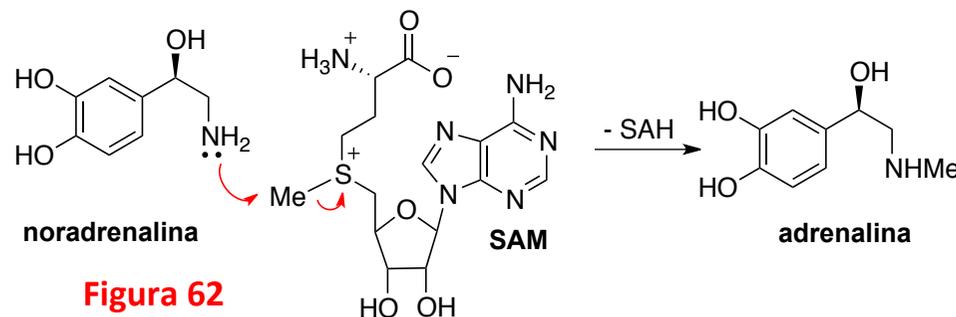
Figura 61

Fijémonos ahora en la estructura de SAM. En ella podemos diferenciar dos agrupaciones:

- el grupo metilo, destacado en rojo, está unido al átomo de azufre a través de un enlace muy polarizado; ello significa que esa posición va a mostrar comportamiento electrófilo y será susceptible, por lo tanto, de reaccionar con nucleófilos.
- el conjunto de átomos marcado en azul constituye, todo él, el grupo saliente S-adenosilhomocisteína (SAH) cuando SAM es sometido a reacción de sustitución nucleófila; al estar su átomo de azufre cargado positivamente, el grupo saliente será desplazado en forma neutra, es decir, como una base muy débil lo cual se corresponde con un excelente grupo saliente.

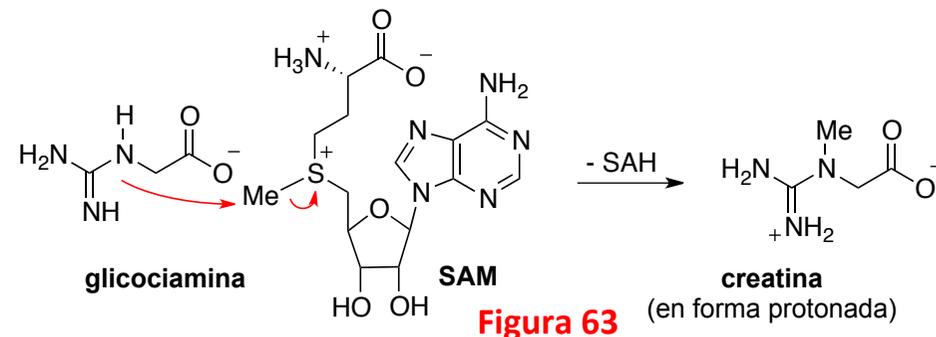


SAM



En situaciones de peligro y también de excitación, nuestro organismo transforma noradrenalina en la hormona neurotransmisora adrenalina, proceso que tiene lugar en la glándula suprarrenal. Este proceso (Figura 62) de N-metilación también puede describirse como una reacción de sustitución nucleófila.

Un segundo ejemplo de N-metilación vía sustitución nucleófila lo encontramos en la transformación de glicociamina en creatina (Figura 63). Se trata ésta de un derivado de aminoácido que se genera en situaciones de exigencia muscular y, por ello, se suministra como suplemento dietético a determinados deportistas.



Nota: Las transformaciones mostradas en estas dos últimas páginas estarán obviamente catalizadas por los enzimas correspondientes, luego estrictamente no se corresponden mecanísticamente con procesos S_N2 . Aún así, los conceptos químicos que los gobiernan son idénticos.

Tema 5: Reacciones de sustitución en procesos biológicos

5.4. Formación y ruptura de éteres.

La formación de un éter por reacción entre dos moléculas de alcohol, en ausencia de activación, no es un proceso favorable (Figura 64). El ataque nucleófilo del grupo OH sobre el carbono electrófilo de la segunda molécula de alcohol desplaza anión hidróxido como grupo saliente. Al tratarse de una especie relativamente fuerte como base, su habilidad como grupo saliente será muy pobre.

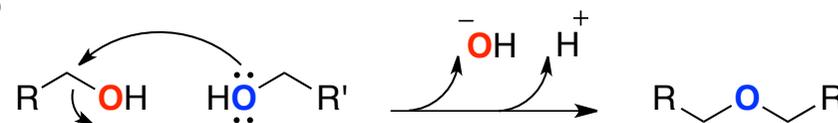


Figura 64

En un laboratorio químico podemos mejorar el proceso llevándolo a cabo bajo catálisis ácida o básica. Pero la naturaleza, como ya se ha indicado, ha encontrado su propia solución: la previa fosforilación del grupo OH que va a ser sustituido. Así, la glucuronidación, o conjugación del ácido glucorónico, constituye una de las posibles vías por las que un fármaco que porte grupos alcohol o fenol puede ser metabolizado para su posterior excreción. Este proceso se inicia con la formación de UDPGA (uridina-5'-difosfato- α -D-ácido glucurónico). Con ello se consigue transformar un mal grupo saliente (OH) en otro mucho mejor (OH fosforilado) que es posteriormente desplazado por un alcohol o fenol.

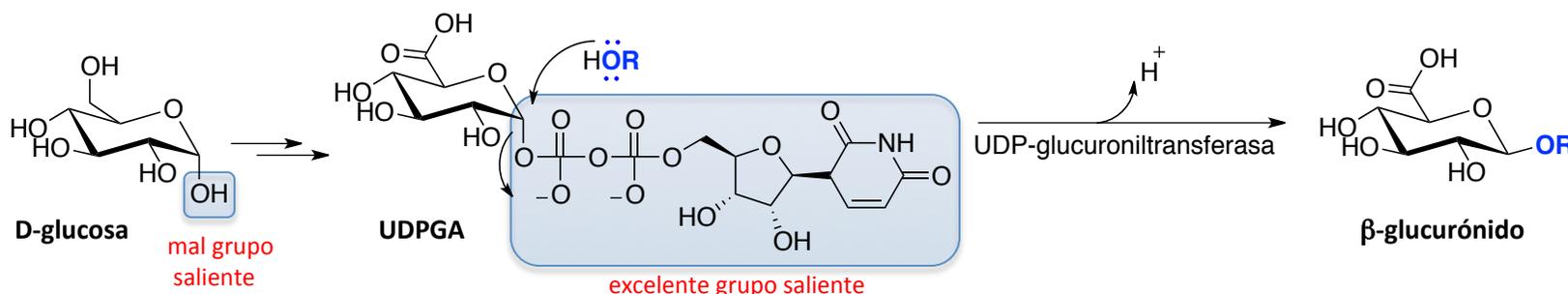
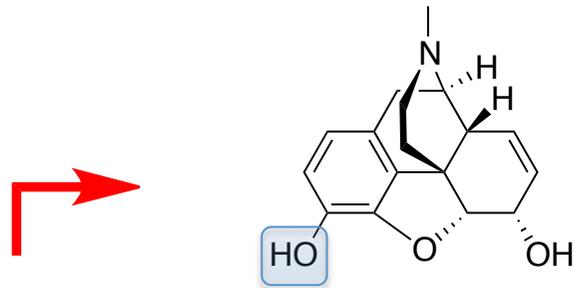


Figura 65. Glucuronidación de la D-glucosa

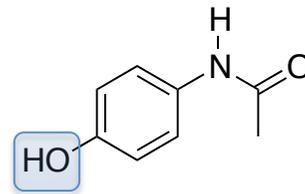
Formalmente se trata de un proceso S_N2 catalizado por una transferasa que convierte la D-glucosa en un β -glucuronido con inversión de configuración en el carbono anomérico (Figura 65).

Tema 5: Reacciones de sustitución en procesos biológicos
5.4. Formación y ruptura de éteres.

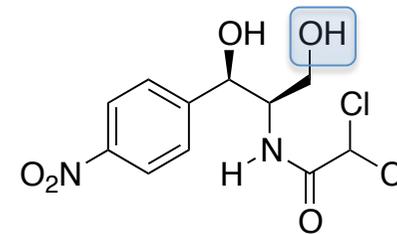
La morfina, el paracetamol y el cloranfenicol son tres fármacos que emplean la vía de la glucuronidación para ser metabolizados y excretados del organismo a través de los grupos OH resaltados. El producto resultante de este proceso, un glucósido, es muy soluble en agua y, por lo tanto, fácilmente excretable por la orina (Figura 66).



morfina



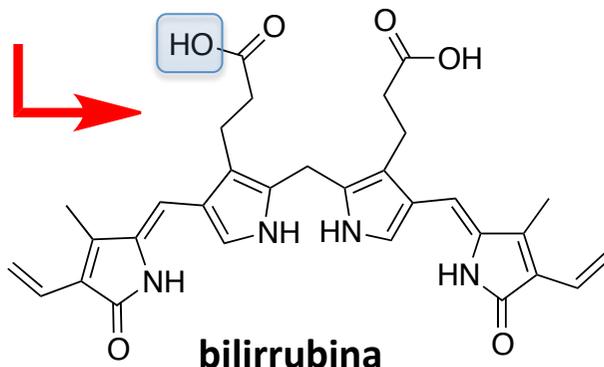
paracetamol



cloranfenicol

ROH en la figura 65

Figura 66



bilirrubina

Figura 67

Es conocido que un déficit en la cantidad del enzima necesario para realizar la glucuronidación puede conducir al desarrollo de varias patologías (síndrome de Crigler-Najjar y síndrome de Gilbert, por ejemplo).

Ocasionalmente este déficit aparece en los recién nacidos y trae como consecuencia un aspecto amarillento en la piel derivado de la acumulación de bilirrubina, la cual se elimina también por este mecanismo (Figura 67).

Una acumulación de cloranfenicol por haber sido administrado en exceso a niños que presentan dificultad en su glucuronidación puede provocar el “síndrome del niño gris”.

Tema 5: Reacciones de sustitución en procesos biológicos
5.4. Formación y ruptura de éteres.

El metabolismo de los sacáridos nutre al organismo de un gran aporte energético que es empleado posteriormente en múltiples funciones. En particular, la ruptura enzimática (β -galactosidasa) de su unión glicosídica conduce a glucosa y a galactosa y ésta, a su vez, evoluciona hacia glucosa (Figura 68).

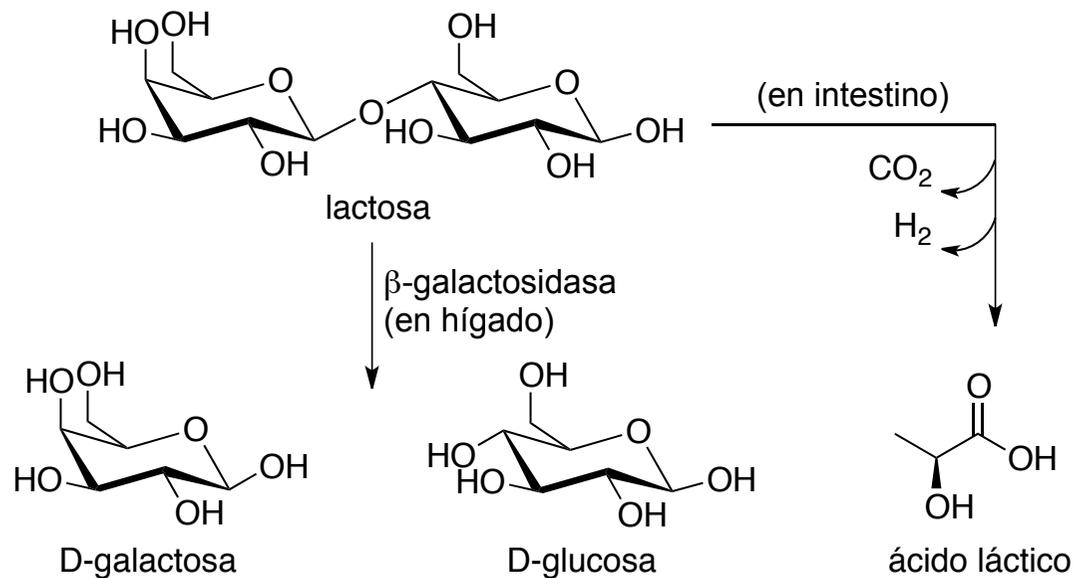


Figura 68. Metabolismo de la lactosa

Un importante porcentaje de la población, y de lactantes en particular, no dispone de la cantidad suficiente de la enzima encargada de realizar este proceso. En estos casos, en lugar de metabolizarse en el hígado por ruptura de la unión éter, la lactosa se acumula en el intestino donde es degradado hasta ácido láctico con generación de CO_2 y H_2 . La acumulación de ácido láctico conduce a un cuadro (diarrea, náuseas, cólicos) conocido como “intolerancia a la lactosa”.

Probablemente, el ejemplo más clásico y sencillo empleado para ilustrar un proceso de sustitución nucleófila intramolecular sea el de la formación de epóxidos por tratamiento básico de halohidrinas. En éstas, el nucleófilo y el grupo saliente se encuentran adecuadamente ubicados en posiciones adyacentes de la cadena carbonada (Figura 69).

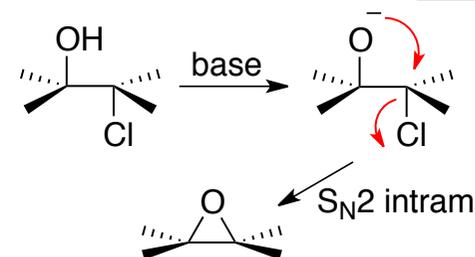


Figura 69

Análogamente (Figura 70), ciertos sustratos (I) pueden experimentar procesos de sustitución nucleófila mostrando una velocidad de reacción mayor de lo esperada en su transformación en el producto III. Tal situación ocurre si simultáneamente portan en su estructura un nucleófilo y un grupo saliente en una posición relativa adecuada (Nu y X, respectivamente, en I).

Este ataque interno preliminar, que transforma I en II, tiene lugar con una orientación análoga a una S_N2 , es decir, por la dirección de enlace opuesta al grupo saliente. Pero dado que se trata de un ataque intramolecular, el proceso será unimolecular desde el punto de vista cinético.

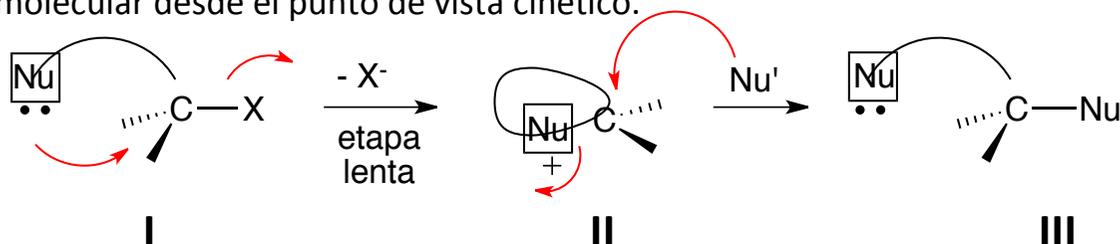


Figura 70. Representación esquemática de un proceso de sustitución nucleófila intramolecular

El ataque inicial conduce al intermedio de reacción (II) que, posteriormente, es atacado por un segundo nucleófilo externo (Nu'). Dado que el intermedio II muestra ahora un déficit de carga, este segundo ataque se facilita y la reacción se acelera. A este apoyo que hace el nucleófilo interno (vecino) para que la segunda reacción tenga lugar con mayor velocidad lo llamamos **asistencia anquimérica** y constituye la base por la que ciertos compuestos, incluidos fármacos, han podido ser preparados.

El gas mostaza (I) es un líquido de alto punto de ebullición usado como un arma química en la primera guerra mundial en forma de aerosol. Este compuesto, el sulfuro de *bis*-(2-cloroetilo), se hidroliza mucho más rápidamente que su análogo no sulfurado, el 1,5-dicloropentano.

Su modo de acción (Figura 71) consiste en el daño que produce el HCl liberado durante la hidrólisis de los intermedios tiuronios II y IV en los pulmones de quien lo inhala.

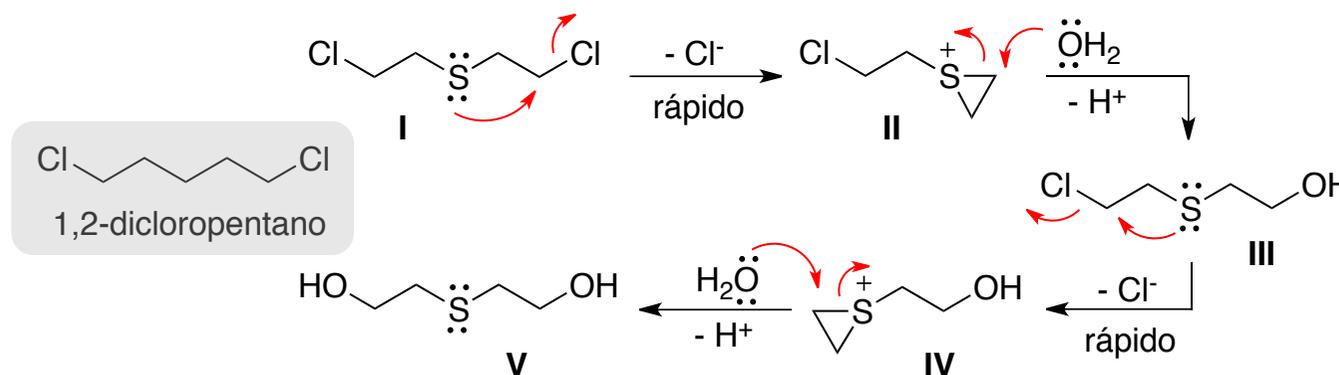
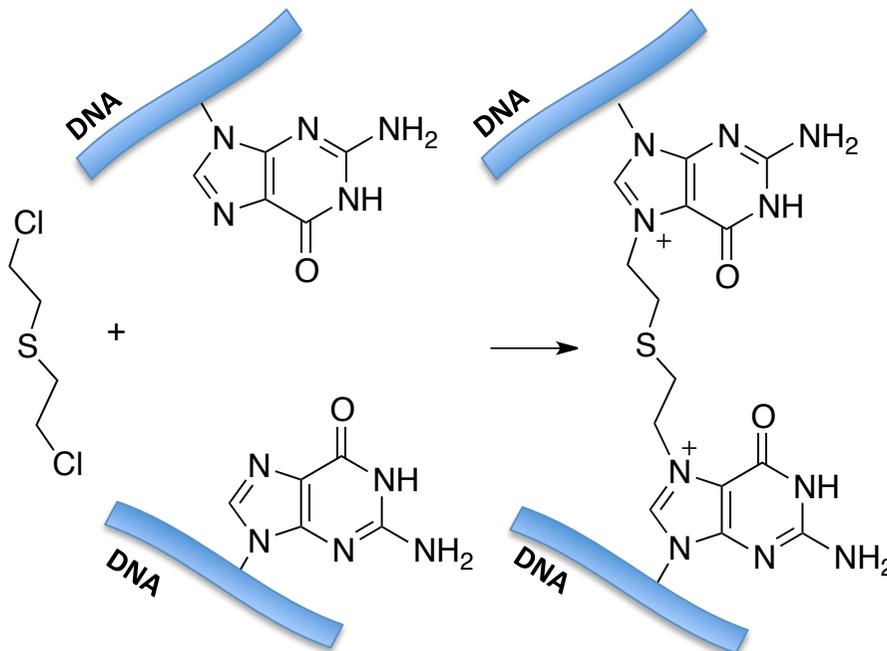


Figura 71. Hidrólisis del gas mostaza. Asistencia anquimérica

El sustrato I dispone de un nucleófilo interno (el átomo de azufre) y dos grupos salientes (aniones cloruro) ubicados en las posiciones adecuadas. Los intermedios tiuronios (II y IV) están cargados positivamente, luego el posterior ataque del nucleófilo externo (el agua) estará muy favorecido. Diremos que el azufre asiste anquiméricamente la sustitución de los dos átomos de cloro por dos moléculas de agua.

El comportamiento dañino que muestra el sulfuro de *bis*-(2-cloroetilo) bajo determinadas circunstancias en presencia de nucleófilos puede reorientarse a fines más beneficiosos para la salud. Se ha comprobado que este compuesto tiene similar acción en presencia de posiciones nucleófilas del DNA conducente a entrecruzamiento de hebras. Este entrecruzamiento que se establece entre dos hebras del DNA impide que éste se replique y que, por lo tanto, conduzca a la muerte celular (Figura 72).



Un modo de aprovecharnos de este fenómeno sería intentar promover este proceso en células tumorales de modo específico. De hecho, es una acción que ya se probó en el año 1931 inyectando directamente sulfuro de *bis*-(2-cloroetilo) en células tumorales.

Se desistió de su uso ya que, aunque producía cierta acción sobre las células a destruir, resultó ser demasiado tóxico para su uso clínico.

A partir de estos resultados se inició un estudio dirigido a conseguir un mejor candidato, activo para promover entrecruzamiento en células tumorales, pero inocuo frente al resto del organismo.

Figura 72. Entrecruzamiento de hebras de DNA con el sulfuro de *bis*-(2-cloroetilo)

El primer candidato que se sintetizó fue la mecloretamina (Figura 73), un análogo del gas mostaza en el que el átomo de azufre (punto nucleófilo de la molécula) ha sido sustituido por un grupo N-metilo (también nucleófilo). Por ello, la reactividad de ambos sustratos, frente a nucleófilos externos, será similar, es decir, experimentará un primer proceso de expulsión de anión cloruro a través de un proceso S_N2 intramolecular y el intermedio aziridinio resultante será objeto de ataque por parte de una segunda especie nucleófila.

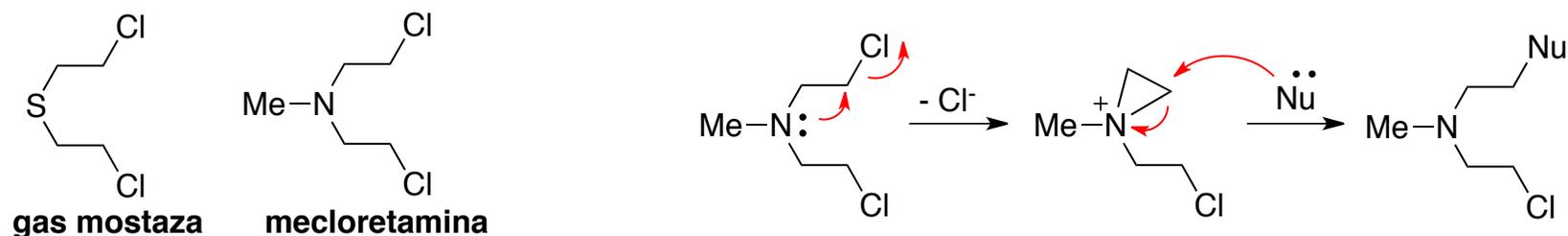


Figura 73

En estudios clínicos se demostró que la mecloretamina producía con éxito el entrecruzamiento de hebras de DNA en células tumorales, pero su alta reactividad con el agua lo hacía poco eficaz, a pesar de tratarse de un fármaco todavía en uso que se emplea en combinación con otros agentes en casos particulares. Por ello, un posterior diseño mejorado se centró en disminuir la nucleofilia del átomo de nitrógeno. Una fácil solución a ello implica retirar su densidad electrónica prescindiendo del grupo metilo y uniéndolo a un sistema insaturado.

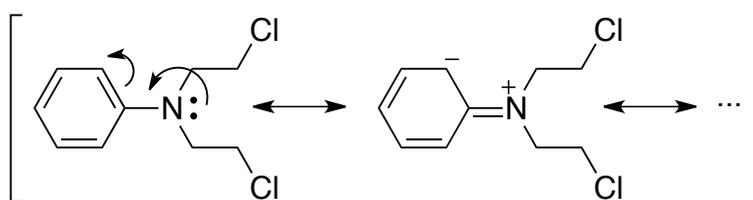


Figura 74

En la nueva estructura que resulta (Figura 74), la *N,N*-bis(2-cloroetil)anilina, el átomo de nitrógeno ve disminuido su carácter nucleófilo por lo que ejercerá la asistencia anquimérica de modo limitado. El compuesto todavía puede funcionar como agente antitumoral, pero se reduce su velocidad de reactividad con el agua. Perfecto, aparentemente.

Es cierto que el grupo fenilo solucionó el problema de la reactividad de la mecloretamina, pero creó otro nuevo: el nuevo compuesto ha visto disminuida su solubilidad en medio acuoso drásticamente, lo cual dificultaba su administración por vía intravenosa. Dado que los grupos polares favorecen la solubilidad en un medio acuoso de las moléculas que los portan, se sintetizó el derivado carboxilado ácido 4-bis(2-cloroetil)amino]benzoico.

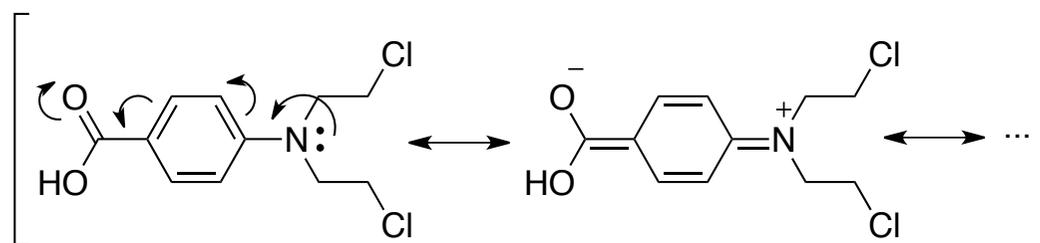


Figura 75

En efecto, la solubilidad aumentó considerablemente, pero anuló por completo su acción biológica. El poder atractor del grupo carboxilo es tan pronunciado en este caso que cancelaba el carácter nucleófilo del átomo de nitrógeno, necesario para iniciar la asistencia anquimérica a una velocidad adecuada (Figura 75).

La solución final vino de la mano del clorambucilo, el ácido 4-[4-(bis(2-cloroetil)amino)fenil]butanoico, un compuesto que mantiene las características de solubilidad buscadas y que, al haber interrumpido la conjugación entre el grupo carboxilo y el átomo de nitrógeno, no desactiva a éste frente al proceso de asistencia anquimérica que da inicio al proceso de entrecruzamiento de hebras de DNA en células tumorales (Figura 76).

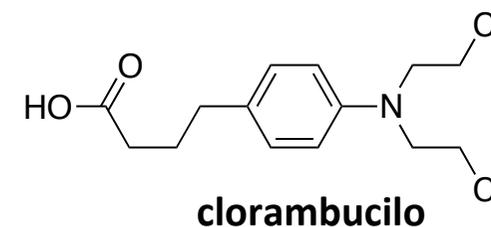
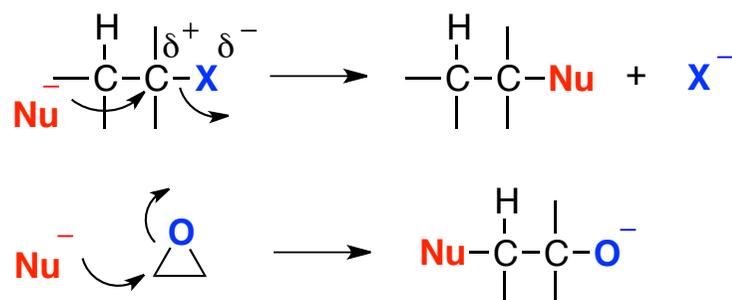


Figura 76

5.6. Epóxidos como compuestos electrófilos, esterilizantes y carcinogénicos.

En el punto anterior se han presentado a los derivados halogenados ($X=\text{Hal}$), los alcoholes ($X=\text{OH}$) y los éteres ($X=\text{OR}$) como sustratos susceptibles de ser atacados por nucleófilos (Nu). Éstos se unirán al carbono más electrófilo del sustrato, el que está directamente unido al grupo saliente (X), desplazándolo. Lo acusado del carácter nucleófilo de la especie entrante y la habilidad del grupo saliente para estabilizar la carga negativa, una vez desligado del sustrato, dictarán, entre otros condicionantes, la eficacia del proceso.



La reacción de sustitución nucleófila también puede llevarse a cabo sobre epóxidos. Se trata de heterociclos de tres miembros que incorporan un átomo de oxígeno en su estructura. Al igual que en los alcoholes y los éteres, el enlace $\text{C}-\text{O}$ de los epóxidos está polarizado hacia el oxígeno por lo que el carbono tendrá carácter electrófilo.

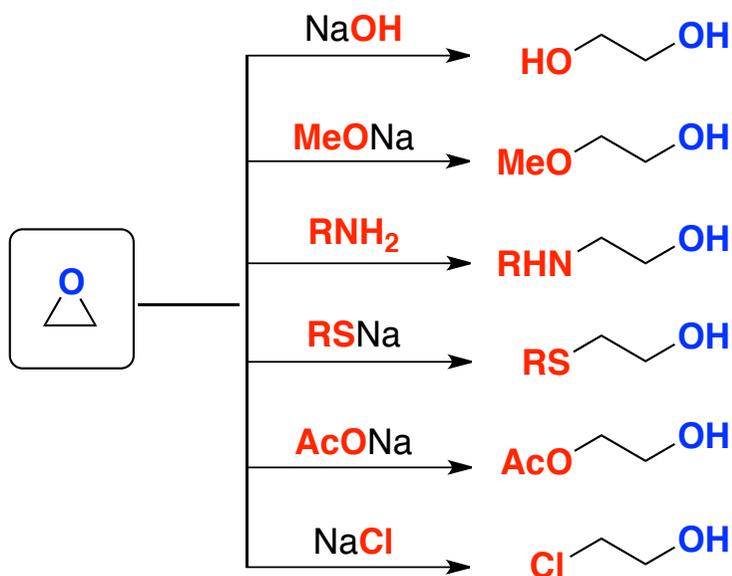
Figura 77. Los nucleófilos pueden desplazar grupos salientes en restos alifáticos y promover la apertura de epóxidos

Por otra parte, ya se ha mencionado que los alcoholes y los éteres no son buenos sustratos para llevar a cabo procesos de sustitución nucleófila porque los grupos salientes correspondientes (OH^- y ^-OR , respectivamente) son malos grupos salientes por tratarse de bases relativamente fuertes. ¿Ocurrirá lo mismo con los epóxidos?

No. Cuando un epóxido se enfrenta a un nucleófilo, el enlace $\text{C}-\text{O}$ se disocia al tiempo que se forma un nuevo enlace $\text{C}-\text{Nu}$. El proceso conduce a un intermedio alcóxido, una especie oxigenada con carga negativa sobre este átomo. Siendo los alcóxidos pésimos grupos salientes, ¿por qué tiene lugar la reacción? La respuesta la encontramos en la liberación de la tensión angular que presenta este heterociclo, principal motor de la reacción, que ocurre al reaccionar y convertirse en un producto alifático. En resumen, los epóxidos son excelentes sustratos para reaccionar con nucleófilos (Figura 77).

5.6. Epóxidos como compuestos electrófilos, esterilizantes y carcinogénicos.

En la Figura 78 se muestran, en términos genéricos, diferentes tipos de compuestos a los que se puede acceder a través de esta vía. La lista incluye nucleófilos como hidróxidos (o bien agua), alcóxidos (o bien alcoholes), aminas, tiolatos (o bien tioles), acetatos o cloruros. Todos ellos pueden promover la apertura de un epóxido para conducir a multitud de compuestos bifuncionales que, a su vez, pueden derivarse hacia productos más elaborados.



Desde el punto de vista biológico, ¿podemos encontrar algún beneficio en la alta reactividad de los epóxidos frente a nucleófilos y, contrariamente, pueden resultarnos dañinos de algún modo? La respuesta a ambas preguntas es afirmativa.

Figura 78. Apertura de epóxidos con diferentes nucleófilos

5.6. Epóxidos como compuestos electrófilos, esterilizantes y carcinogénicos.

El óxido de etileno es un gas que puede emplearse como agente de esterilización de material médico en el caso de que otras alternativas no sean adecuadas. Se apunta a que, en su acción frente a microorganismos, grupos amino presentes en la cadena de su ADN reaccionan con él provocando su apertura (Figura 79). Ello significa que si el óxido de etileno (los epóxidos en general) es tóxico para los microorganismos también puede ser tóxico para nosotros.

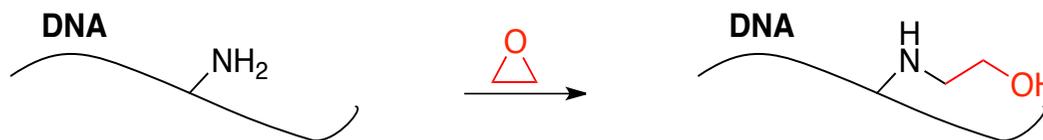


Figura 79

Los benzopirenos son hidrocarburos policíclicos aromáticos que se forman por la combustión incompleta de la materia orgánica. Están catalogados como cancerígenos y, además, están presentes en el humo de los cigarrillos, en ciertos alimentos y también generados cuando éstos son cocinados a altas temperaturas. La Figura 80 trata de mostrar que, en realidad, son los metabolitos del benzopireno los verdaderos agentes tóxicos ya que el primer paso en su degradación consiste, precisamente, en su transformación en un epóxido.

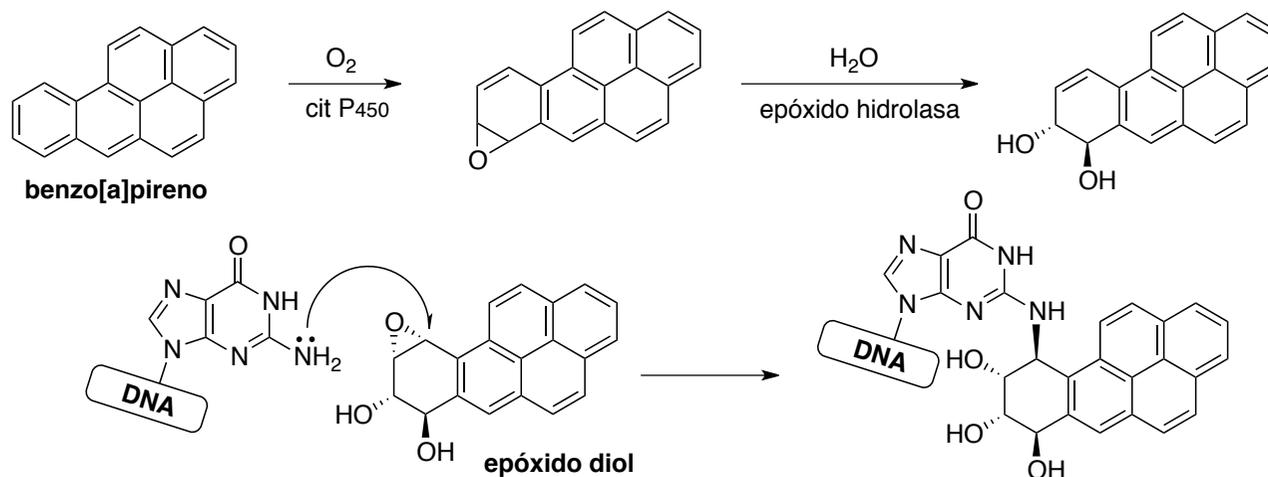


Figura 80. Metabolismo de compuestos poliaromáticos. Excreción inocua (primera línea) y comportamiento tóxico (segunda línea)

Éste puede continuar su degradación hacia un diol y ser excretado o bien puede, alternativamente, ser abierto por un grupo amino de un residuo de desoxiguanosina del ADN alterando su estructura y conduciendo, en última instancia, a la generación de células tumorales.



RECOMENDACIONES

Antes de concluir este tema te recomiendo

- profundizar, para quien así lo desee, estudiando las implicaciones estereoquímicas de todas las reacciones mencionadas en este tema
- realizar los ejercicios de autoevaluación propuestos