

Índice

Prólogo	XI
---------------	----

UNIDAD DIDÁCTICA I

Tema 1. Aspectos cinéticos y termodinámicos de las reacciones orgánicas (<i>Dr. Enrique Teso Vilar</i>)	3
Tema 2. Reacciones orgánicas. Introducción a los mecanismos (<i>Dra. Dionisia Sanz del Castillo</i>)	49
Tema 3. Ácidos y bases (<i>Dra. Dionisia Sanz del Castillo</i>)	87
Tema 4. Catálisis (<i>Dra. Dionisia Sanz del Castillo</i>)	123

UNIDAD DIDÁCTICA II

Tema 5. Intermedios de reacción (<i>Dra. Dionisia Sanz del Castillo</i>)	159
Tema 6. Mecanismos de las reacciones de sustitución nucleófila alifática (<i>Dr. Enrique Teso Vilar</i>)	207
Tema 7. Mecanismos de las reacciones de eliminación (<i>Dr. Enrique Teso Vilar</i>)	271
Tema 8. Mecanismos de las reacciones de adición (<i>Dr. Enrique Teso Vilar</i>)	313

UNIDAD DIDÁCTICA III

Tema 9. Mecanismos de las reacciones de sustitución en sistemas aromáticos (<i>Dr. Enrique Teso Vilar</i>)	369
---	-----

Tema 10. Fotoquímica (<i>Dra. Dionisia Sanz del Castillo</i>)	411
Tema 11. Reacciones pericíclicas (<i>Dres. Paloma Ballesteros García y Enrique Teso Vilar</i>)	437
Tema 12. Reacciones radicalarias (<i>Dra. Dionisia Sanz del Castillo</i>)	485

UNIDAD DIDÁCTICA IV

Tema 13. Introducción a la Síntesis Orgánica (<i>Dra. Paloma Ballesteros García</i>)	527
Tema 14. Análisis retrosintético I (<i>Dra. Paloma Ballesteros García</i>)	549
Tema 15. Análisis retrosintético II (<i>Dra. Paloma Ballesteros García</i>)	577
Tema 16. Análisis retrosintético III (<i>Dra. Paloma Ballesteros García</i>)	609
Tema 17. Análisis retrosintético IV (<i>Dra. Paloma Ballesteros García</i>)	645

UNIDAD DIDÁCTICA V

Tema 18. Introducción a los productos naturales (<i>Dra. Rosa M.^a Claramunt Vallespí</i>)	687
Tema 19. Metabolitos secundarios derivados de hidratos de carbono (<i>Dra. Rosa M.^a Claramunt Vallespí</i>)	721
Tema 20. Metabolitos secundarios derivados del acetato (I) (<i>Dra. Rosa M.^a Claramunt Vallespí</i>)	759
Tema 21. Metabolitos secundarios derivados del acetato (II) (<i>Dra. Rosa M.^a Claramunt Vallespí</i>)	787
Tema 22. Metabolitos secundarios derivados del ácido shikímico (<i>Dra. Rosa M.^a Claramunt Vallespí</i>)	817
Tema 23. Metabolitos secundarios derivados de aminoácidos (I) (<i>Dra. Dionisia Sanz del Castillo</i>)	843
Tema 24. Metabolitos secundarios derivados de aminoácidos (II) (<i>Dra. Dionisia Sanz del Castillo</i>)	865

UNIDAD DIDÁCTICA VI

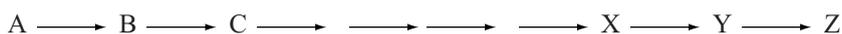
Tema 25. Metabolitos derivados del mevalonato: isoprenoides (<i>Dr. Enrique Teso Vilar</i>)	899
Tema 26. Monoterpenos (<i>Dr. Enrique Teso Vilar</i>)	931

Tema 27. Sesquiterpenos (C ₁₅) (<i>Dra. Paloma Ballesteros García</i>)	955
Tema 28. Triterpenos (C ₃₀). Otros terpenos (<i>Dra. Paloma Ballesteros García</i>)	983
Tema 29. Metabolitos de origen biosintético mixto (<i>Dra. Rosa M.^a Claramunt Vallespi</i>)	1021
Tema 30. Metabolismo secundario y ecología (<i>Dra. Rosa M.^a Claramunt Vallespi</i>)	1045
Bibliografía	1069

18.5. Técnicas de elucidación de las rutas metabólicas

Después de la elucidación estructural del metabolismo secundario es posible proponer una hipótesis biogenética para su formación a partir de las moléculas *building blocks*, acetato, mevalonato, shikimato o aminoácidos. Sin embargo, las rutas biosintéticas sólo podrán confirmarse una vez identificados cada uno de los intermedios y enzimas.

Para ello es necesario llevar a cabo experimentos en que precursores isotópicamente marcados se administran a plantas o microorganismos para producir el metabolito secundario. Dicho metabolito es aislado, purificado y analizado en su contenido isotópico y si la incorporación del isótopo ha ocurrido en la forma prevista se pueden establecer relaciones precursor-metabolito. A veces es posible aislar e identificar intermedios que contengan al isótopo y que podrán a su vez ser utilizados en posteriores estudios de incorporación.



Así, A es una molécula precursora pequeña, por ejemplo acetato, mientras que B, C, X e Y son intermedios en el camino hacia el metabolito Z.

El uso de cepas de organismos mutantes proporciona también información útil, ya que normalmente contienen enzimas aberrantes o niveles alterados de enzimas normales. Así una enzima que cataliza la conversión de B en C puede estar ausente o no existir, con lo que se produciría una acumulación de metabolito B. Este metabolito B también puede originar nuevos caminos o rutas biosintéticas.

Pueden surgir diversas dificultades, a saber:

1. La incorporación de un porcentaje significativo del precursor marcado para que los resultados sean representativos.
2. La necesidad de analizar y quizás degradar el metabolito marcado, para establecer qué átomos han sido isotópicamente enriquecidos.

18.5.1. Administración del precursor

El precursor isotópicamente marcado se administra a organismos vivos o a extractos de células. En general, las plantas incorporan muy pobremente el isótopo marcado (a menudo sólo un 10^{-2} a 10^{-4} por cien del total administrado) debido a que el precursor añadido no puede penetrar en el centro donde se realiza la biosíntesis o es metabolizado en el camino. Se obtienen mejores resultados utilizando células *callus* o cultivos de tejidos de dichas plantas. Dichos cultivos se obtienen a partir de trozos de tejidos que se han hecho crecer de modo que pro-

duzcan células no diferenciadas, que retienen su capacidad de producir metabolitos secundarios pero son incapaces de producir otros compuestos. Una aplicación comercial de esta técnica consiste en producir líneas de células productoras de alcaloides útiles en medicina o terpenoides seleccionados en perfumería. Se consiguen mejores incorporaciones del isótopo con cultivos de bacterias y hongos y la mayor parte del trabajo de los últimos veinte años se ha realizado con metabolitos de mohos.

18.5.2. Examen de los metabolitos marcados

Una vez en posesión de una muestra pura del metabolito marcado o el intermedio biosintético, debe examinarse para determinar la posición de los átomos enriquecidos. Los isótopos radiactivos utilizados son tritio (^3H), un β -emisor de vida media 12,1 años, y carbono-14 (^{14}C), un β -emisor de 5640 años de vida media. El metabolito marcado debe ser degradado químicamente para obtener la información sobre los centros marcados.

Los métodos de degradación utilizados son reacciones comunes en química orgánica: ozonólisis, descarboxilación, degradación de Hofmann, etc. Cada paso de degradación reduce la cantidad de metabolito disponible y es muy difícil, por no decir prácticamente imposible obtener por dicho procedimiento un mapa completo del marcaje de la molécula.

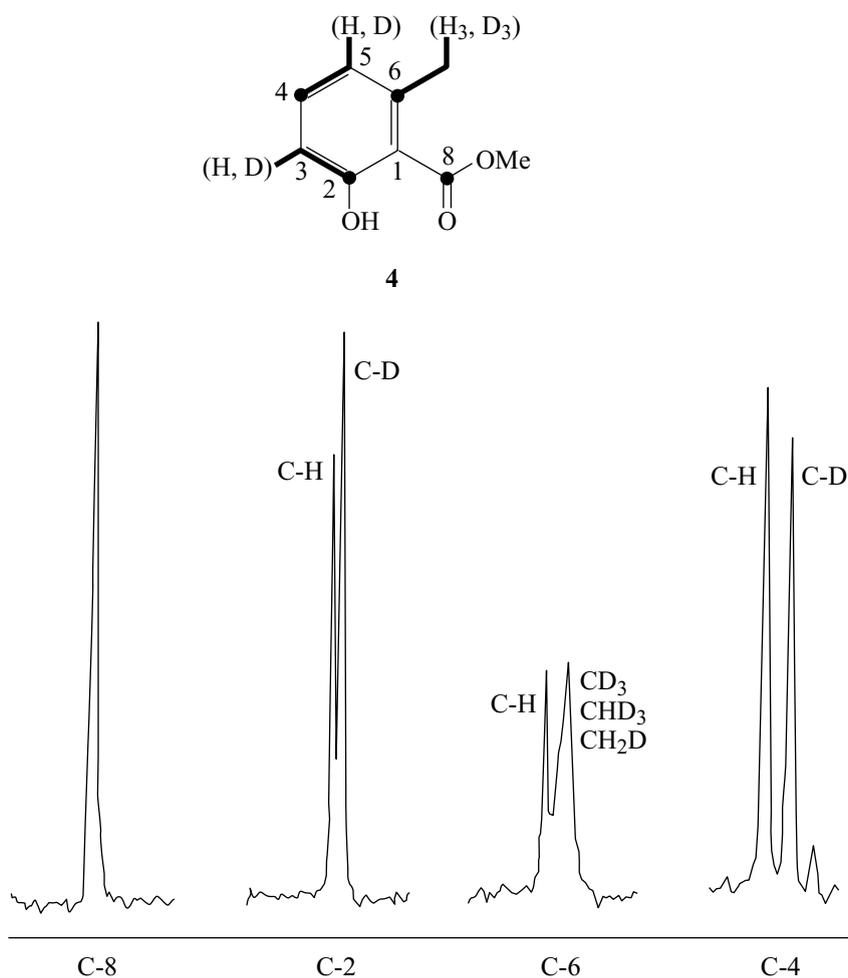
El uso de isótopos no radiactivos como ^{13}C , y en menor extensión ^2H , ^{15}N , ^{31}P y ^{17}O ha revolucionado en los últimos tiempos el estudio de los procesos biosintéticos, ya que al tener dichos isótopos espín $I=n/2$ son detectables mediante la utilización de la resonancia magnética nuclear RMN.

Se compara el espectro de ^{13}C en abundancia natural (1,1%) de un metabolito con el que presenta dicho compuesto después de un experimento de incorporación de un precursor enriquecido en ^{13}C , con objeto de determinar que átomos de carbono provienen del precursor marcado.

El uso de precursores doblemente marcados, con carbono-13 y otro de los isótopos mencionados origina espectros RMN en los que alguna señal de los carbonos presenta *efecto isotópico sobre el desplazamiento químico*, lo que proporciona información adicional. Así, en el espectro de carbono-13, se observa un desplazamiento hacia campos altos de un carbono cuando hay átomos de deuterio unidos al mismo, ya sea directamente (efecto α) o a través de otro átomo de carbono (efecto β).

Si consideramos, por ejemplo, la biosíntesis del ácido 6-metilsalicílico **4**, se puede ilustrar el uso de estas técnicas RMN. La molécula se construye a partir del acetilcoenzima A, MeCO-SCoA , y tres moléculas de malonil- SCoA . Las enzimas que catalizan las diferentes etapas han sido aisladas a partir de *Penicillium patulum* y parcialmente caracterizadas (Esquema 18.14, E= Enzima).

En el caso de la biosíntesis del ácido penicilánico **6** (ver Esquema 18.16) por *Penicillium griseum* y *Penicillium baarnense* utilizando [1,2- ^{13}C]-acetato, la ruta biosintética transcurre a través del metabolito denominado ácido orsellínico **5**, en el que las líneas en negrita indican los enlaces carbono-carbono que se mantienen intactos a partir del enlace ^{13}C - ^{13}C del precursor marcado, lo cual se ha podido establecer a partir de los acoplamientos ^{13}C - ^{13}C en el espectro de RMN de dicho metabolito. Esta biosíntesis constituye un ejemplo claro del fenómeno general mencionado anteriormente a lo largo de este tema, acerca de que los metabolitos secundarios provienen de modificaciones de las rutas ordinarias que conducen a metabolitos primarios.



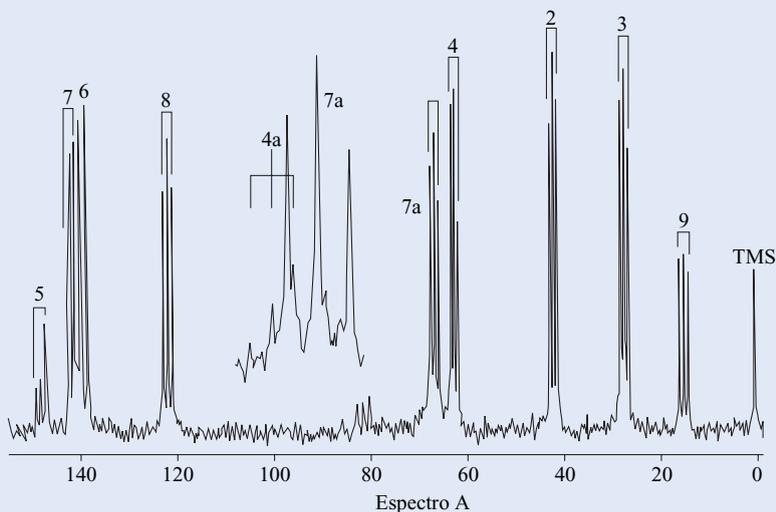
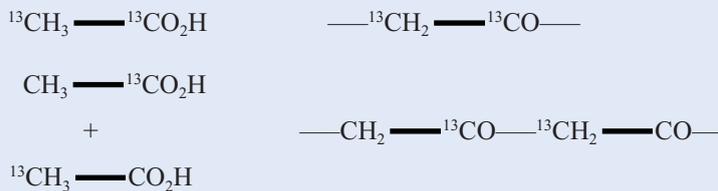
ESQUEMA 18.15

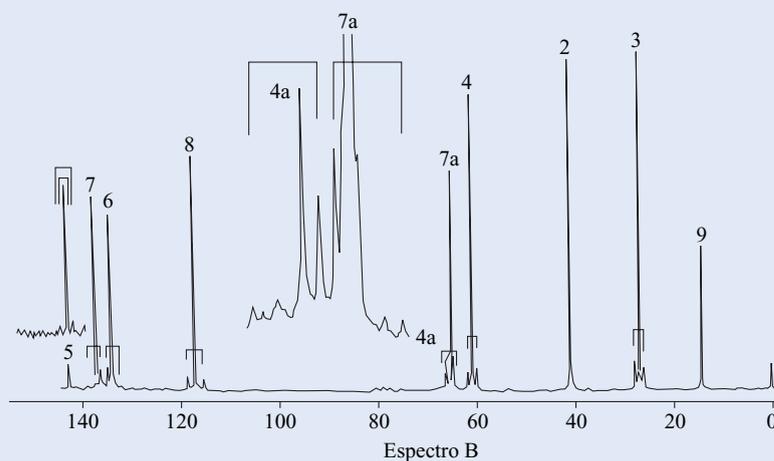
Ejercicios de autocomprobación

1. Indicar para cada una de las siguientes afirmaciones si son verdaderas o falsas, razonando en su caso el por qué:
 - a) Los productos naturales son compuestos orgánicos *esenciales* para los organismos en los que se encuentran.
 - b) El metabolismo consiste en una serie de procesos químicos en cada uno de los cuales interviene una enzima, mediante los que los compuestos químicos se sintetizan y degradan en los organismos vivos.
 - c) La glucosa es una de las moléculas *building block* del metabolismo secundario.
 - d) El ácido shikímico es el ácido 3,4,5-trihidroxiclohex-1-en-carboxílico, y a partir de él mediante el metabolismo secundario se forman aminoácidos aromáticos, derivados del ácido cinámico y otros compuestos aromáticos.
 - e) El acetato, en forma de acetilcoenzima A, es la molécula precursora de los ácidos nucleicos.
 - f) De modo general, cada enzima cataliza diversos tipos de reacción química y puede actuar con sustratos estructuralmente muy diferentes entre sí.
 - g) En el acetilcoenzima A el grupo *tioester* activa a las especies acilo frente al ataque nucleófilo en el átomo de carbono carbonilo, y también frente a la alquilación en el átomo de carbono- α .
 - h) Los azúcares se catabolizan en presencia de oxígeno a través de la glucólisis y en ausencia de oxígeno mediante el ciclo del fosfato de pentosa o ciclo del ácido cítrico.
 - i) El fosfoenolpiruvato y el 4-fosfato de eritrosa originan el ácido shikímico, a partir del cual se forman biosintéticamente los isoprenoides.
 - j) El piruvato *vía* acetilcoenzima A dá lugar a policétidos y ácidos grasos.
2. El espectro de ^{13}C -RMN en abundancia natural de la dihidrolactumcidina obtenida a partir del *Streptomyces reticuli* presenta las siguientes señales:

Carbono	Desplazamiento químico en ppm
2	39,6
3	25,9
4	59,2
4a	64,1
5	140,1
6	131,7
7	133,8
7a	63,1
8	114,9
9	14,0

Cuando la biosíntesis se realizó en presencia de $[1,2-^{13}\text{C}]$ -acetato se obtuvo el espectro de ^{13}C -RMN A, y con una mezcla 1:1 de $[1-^{13}\text{C}]$ -acetato y $[2-^{13}\text{C}]$ -acetato el espectro de ^{13}C -RMN B. En dichos espectros alguno de los átomos de carbono está acoplado a otros carbonos, siendo los modos de acoplamiento posibles:





A partir del análisis de los espectros A y B y de la estructura de la dihidrolactumcidina, proponer conexiones de acetato, que estarían de acuerdo con la multiplicidad de las diferentes señales (la mayoría aparecen como tripletes, en los que la señal del centro se debe a los carbonos en abundancia natural y los dobletes externos corresponden a los carbonos enriquecidos y están asociados a acoplamientos debidos a dicho enriquecimiento). Tener en cuenta que en el espectro B, los carbonos 4a y 5 se acoplan a otros dos átomos de carbono, mientras que los carbonos 2 y 9 no presentan acoplamientos.