

PREPARACION DE INTERMEDIARIOS PARA LA SINTESIS DE HIDROXIFENIL N-METIL SERINAS *

Por

José Perea-Sasiain **

Mi interés en los derivados hidroxilados de las 3-fenil N-metil serinas, en especial las para-hidroxi y 3,4-dihidroxi, se debe a la hipótesis previamente planteada (1); ¿se podría utilizar el sistema de fenol-oxidasas (tirosinasa) de la célula del melanoma (maligno) para producir in situ un compuesto tóxico para ella?

CONSIDERACIONES PREVIAS

La primera referencia a un aminoácido de este tipo —la *beta*— 3,4 dihidroxifenil, *alfa* N-metil serina (áci-

do "adrenalin-carboxílico") fue publicada por Rosenmund y Dornsaft (2), quienes prepararon el aminoácido no metilado. La hipótesis de estos autores sobre la importancia de estos aminoácidos como precursores de la adrenalina fue rebatida por Knoop (3), quien demostró la dificultad de preparar ácido 2-metilamino 3-hidroxi 3-fenil propiónico (fenil N-metil serina) a partir de la correspondiente clorohidrina. En 1947, Dalgleish logró la condensación del éster etílico de la sarcosina (N-metil glicocola) con el 3,4 dicarboxibenzaldehído, y obtuvo ácido "adrenalin-carboxílico" con un rendimiento bajo (4). En ésta, y en una publicación posterior (5), el mismo autor señaló la dificultad para obtener este tipo de ácido, habiendo realizado múltiples ensayos.

El interés en las fennilserinas aumentó extraordinariamente al dilucidarse la estructura del cloramfenicol (6) (D-) treo 2-dicloroacetamido 1-paranitrofenil 1, 3 propanediol). Entre numerosos análogos preparados están la parahidroxi (7, 8, 9) y la 3,4-dihidroxi (9, 10) 3-fenilserinas.

* Este trabajo fue realizado siendo Asistente de investigaciones del doctor Aaron B. Lerner, Profesor de Dermatología, Departamento de Medicina Interna, Yale University, N. H., USA, con fondos de investigación de los National Institutes of Health, Bethesda, Md., USA, a quienes debo el reconocimiento por su ayuda y liberalidad, y su permanente interés.

** Agradezco, igualmente, los consejos y ayuda e interés del doctor Harold G. Cassidy, Profesor de Química, Yale University, New Haven, USA, y al doctor Miguel A. Fernández Refajo, actualmente Investigador Asociado de la Retina Foundation, Boston, USA.

Sin embargo, y muy recientemente, la dificultad de la síntesis de estos compuestos hidroxilados ha sido señalada por Hartung (11).

El problema fundamental es complejo: las fenilserinas tienen 2 carbonos asimétricos, existiendo 2 diastereoisómeros -treo y eritro- y cuatro configuraciones ópticamente activas. Su separación no es fácil; por ello interesa establecer para su preparación secuencias que den uno solo de los diastereoisómeros. Mayor dificultad presentan los derivados N-metilados, pues no es posible obtenerlos mediante la reacción de Erlenmeyer, condensación de un aldehído aromático con la glicocola, dando fenilserinas -; en dicha reacción es necesaria la presencia de un grupo amina primario, pues se forma como intermediario en la reacción una base de Schiff. La sarcosina y sus ésteres no reaccionan con igual facilidad (4). Se puede prever, teóricamente (12), la formación de compuestos cíclicos del anillo oxazolidina, como lo realizaron Havinga y Spitzer (13), al condensar el p-nitrobenzaldehído con el éster etílico de la sarcosina y aislar 3 de los 4 estereoisómeros teóricamente posibles. Sin embargo, esta síntesis y la separación sub-secuente de sus productos, no es sencilla (14).

Así, pues, hasta 1956 no se habían publicado métodos fáciles para la obtención de N-metil fenilserinas. Billet (15) preparó dos fenil O,N dimetilserinas a partir de los ácidos 2-bromo 3-metoxi correspondientes, y pudo demetoxilar con ácido bromhídrico para obtener las fenil N-metilserinas. Hajos (16) pudo demetoxilar las paranitrofenil Ometilserinas y obtener los hidroxiaminoácidos correspondientes. Lo anterior contrasta con el informe de Carter y Van Loon (17) de la descomposición de la fenilserina por calentamiento con el ácido bromhídrico.

Nuestra idea inicial fue utilizar el ácido 2-halo-3-hidroxi-3-fenil propiónico tal como lo realizó Knoop (3); este autor demostró, sin embargo, que este ácido reacciona con la metilamina produciendo una fenil iso-serina. Esto se debe a que se produce un ácido fenilglicídico, el cual reacciona con la amina abriendo su anillo epoxi entre el oxígeno y el carbono más alejado del grupo carboxílico (3). Pero esta reacción no es la única que ocurre: Forster y Rao (18) comunicaron la síntesis de cis (eritro) fenil serina por éste y otro método (reducción del ácido 2-triazo 3-hidroxi-3-fenil-propiónico) pero no aportaron pruebas adicionales de su estructura; el punto de fusión que informaron es igual al de la isoserina preparada y analizada por Knoop (3), y, además, el de su derivado O-metilado no es uniforme ni equiparable a los informados para los dos estereoisómeros (19).

Negoro (20) obtuvo treo-fenilserina a partir de una bromohidrina del ácido transcinámico, y comparó su producto con el obtenido por el método de Erlenmeyer: los puntos de fusión y el de la mezcla fueron idénticos.

Por otro lado, existirían problemas para la halogenación de ácidos cinámicos sustituidos por grupos activadores en el anillo (OH, OCH₃, NH₂), etc. (21). Para obviar el problema planteado por la formación del anillo epóxido y su apertura, me fue sugerida (21) la utilización de la etilenimina correspondiente, pues este anillo se abriría por hidrólisis ácida dejando el grupo amina vecino al carboxílico, o su éster. A priori consideré estos intermediarios difíciles de preparar y en algunos ensayos preliminares confirmé esta dificultad.

PARTE EXPERIMENTAL

Métodos.

I. Estudiamos la reacción del ácido 2-bromo 3-hidroxi-3-fenil-propiónico

con el amoniaco, en diversos solventes, y con el acetato y el carbonato de amonio, en agua; mediante la cromatografía sobre papel Whatman 2, usando como desarrolladores el de Shaw y Fox (22), el de Drell (23) y Butanol 4- Acido Acético 1-Agua 5, fase superior.

II. Realizamos la bromometoxilación del ácido para-metoxicinámico por el método de Buckles (24, 25) y el producto resultante (IIa) tratado por la metilamina de acuerdo con Bilet (15) dio 2- metilamino 3-metoxi 3-parametoxi-fenil propiónico (IIb). Sin embargo no pude aislar los aminoácidos por demetoxilación de IIb con ácido bromhídrico.

(Fórmula. Ver figura 1).

III. Formilamos la O.N. dimetilfenilserina (15), según el método de Du Vigneaud y Meyer (26), el ácido resultante (III a) fue nitrado a baja temperatura según Hajos (16) y obtuvimos 2-metil-formilamino 3-metoxi 3-paranitro-fenilpropiónico (IIIb) que pudimos hidrolizar y aislar a 1-metilamino 2-metoxi 2-paranitrofenilpropiónico (III c), pero sólo demetoxilar parcialmente a la serina correspondiente, ácido 2-Metilamino 3-hidroxi 3-paranitrofenilpropiónico, lo cual no permitió continuar la deseada secuencia, similar a la seguida por Holland (8) para la preparación de hidroxifenilserinas.

(Fórmula. Ver figura 2).

I. Se preparó ácido 2-Bromo-3-Hidroxi-3-fenilpropiónico (27) (I) que al recristalizar fundió a 125° - 126°C (sin corregir).

24.5 mg. de I en amoniaco concentrado (58%) da en 3 días a temperatura ambiente 3 manchas positivas con la ninhidrina usando el desarrollador de Shaw. Su R_f (movilidad) fue de 0.27, 0.19 y 0.04. El mismo resultado se obtuvo después de 15 días.

10 g. de I. se disolvieron en 60 cc. de amoniaco concentrado (58%) y

se dejaron a temperatura ambiente 10 días. Se evaporó la solución a presión reducida. Se lavó el producto sólido con alcohol y se filtró. El análisis cromatográfico muestra 2 manchas con el desarrollador de Shaw, la de mayor R_F se desplaza como la eritro-fenilserina (22); la otra, de aproximadamente la misma intensidad, de color más oscuro, pero tiene la movilidad de la 2ª del ensayo primero.

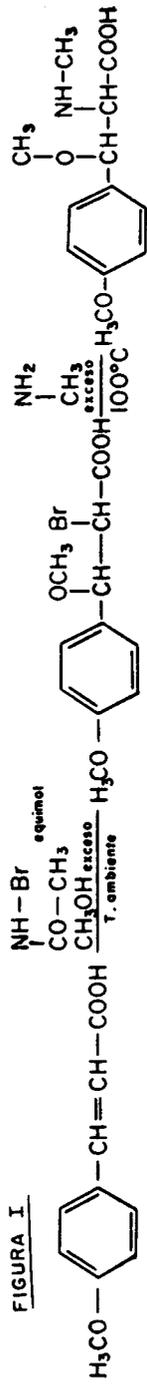
Utilizando amoniaco seco en alcohol etílico a ebullición se observaron a las 17 horas 4 manchas con un R_F de 0.59, 0.21, 0.14 y 0.02, con el desarrollador de Shaw, dando las fenilserinas controles trece 0.45 (0.02 menos) y eritro 0.30 (0.03 más). La solución de amoniaco seco en piridina, dimetilformanida y dioxano, no dio manchas positivas con ninhidrina.

Los ensayos con carbonato y acetato de amonio en solución y 24.5 mg. de I a temperatura ambiente no dieron compuestos positivos con ninhidrina. Calentando a 60 y 100° C, se observó coloración amarilla con el carbonato y roja con el acetato de amonio. Con éste se observaron 3 manchas similares a las producidas por el amoniaco y con el carbonato las 2 más rápidas. Se observó después de 4 horas, ácido bromohidroxi (I) sin reaccionar.

II a). *Acido 2-bromo-3-metoxi-3-parametoxifenil propiónico.*

A 17.8 g. de ácido p-metoxicinámico, disueltos en un exceso de alcohol metílico, se agregaron 13.8 g. de N-bromoacetamida (Arapahoe Chemicals Co.) en porciones a temperatura ambiente; se dejó la mezcla hasta el día siguiente, se redujo su volumen por evaporación a presión reducida y se agregó a éste 1.3 partes de agua. Por recristalizaciones repetidas del sólido obtenido con Alcohol etílico (95%) 1 p. y agua 4 partes, y recogiendo el producto que cristaliza primero, se ob-

FIGURA I

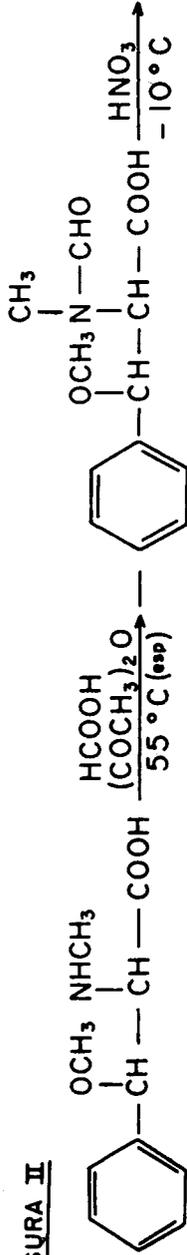


II

II a

II b

FIGURA II

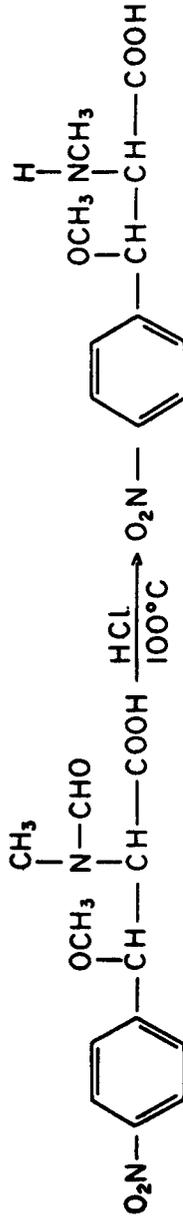


III

III a

III b

III c



tuvieron cristales con p. f. 149-151 (s. c.). Su análisis * dio: c = 45.21 y 45.47 H: 4.35 y 4.52 Br. 27.83 grupos metoxilo: 21.18. Calculado teóricamente C: 45.71, H: 4.50, Br.: 27.65 OCH₃: 21.45. Este análisis concuerda con la presencia de un 1% de ácido 2,3 dibromo-3-metoxifenil propiónico.

b) *Acido 2-metilamino-3-metoxi-3-parametoxifenil propiónico.*

El producto II a con exceso de metilamina (solución al 30%) calentado a 100° C, en tubo sellado, durante 4 horas, da, por evaporación de la solución, de color amarillo resultante, con eliminación del exceso de metilamina, filtración y adición de alcohol un polvo blanco que funde con descomposición a 208-210° C (s. c.). Recristalización de alcohol de 95° da p. f. 209-210° y el análisis de este producto fue c = 60.30 H = 7.26 N = 5.83 y 6.04, Metoxilo 25.99 N-metil 12.02 (calculado teóricamente C = 60.23 H = 7.16 N = 5.85 Metoxilo 25.94 N = metil 12.14).

Ensayos de demetoxilación de II b.

Al calentar II b con ácido bromhídrico concentrado, se produjo abundante descomposición y un producto marrón oscuro, negativo con la ninhidrina.

Hirviendo en agua con el equivalente de ácido bromhídrico para dos metoxilos se observó, al cabo de 3 horas, la aparición de 2 nuevos compuestos positivos a la ninhidrina, pero al cabo de 60 horas todavía se encontraba abundante cantidad de II b.

III. a) *Formil O,N dimetil fenilserina.*

20.5 g. de O,N dimetilfenilserina obtenida del ácido 2-bromo 3-metoxi 3-fenil propiónico de punto fusión alto (24) según el procedimiento de

* Los análisis fueron realizados por Schwartzkopf Microanalytical Laboratories, Woodside, N. Y., USA.

Billet (15), se disolvieron en 200 cc. de ácido fórmico (60 cc. técnico y 140 al 98%) y se añadieron 66 cc. de anhídrido acético (práctico). La temperatura subió a 55° C y permaneció unos 10 minutos por encima de 50° C y luego bajó; se dejó la mezcla a temperatura ambiente. Al día siguiente se evaporó entre 38 y 50° C a presión reducida hasta consistencia de jarabe. Se añadió ácido clorhídrico normal frío y se dejó en un gabinete frío 3 días. Se recogieron 17.7 g. de sólido (76.1%) y se recristalizó de 450 cc. de agua, tratando con carbón animal y filtrando. Se obtuvieron 7.7 g. de cristales con punto de fusión 134-5° C (s. c.). Una muestra recristalizada de agua dio un punto de fusión 135-135.5° C, secada al vacío (4 horas 100° C) sobre pentóxido de fósforo dio el siguiente análisis: C = 61.02 H 6.38; calculado teóricamente C = 60.75 H = 6.33.

b) *Formil O,N dimetil-3-paranitrofenilserina.*

3 g. de III a se añadieron en pequeñas porciones, y con buena agitación mecánica a 10 cc. de ácido nítrico fumante mantenido entre -10 y -15° C durante una hora. La mezcla se dejó 2 horas más, siendo la temperatura entonces 0° C; se añadió agua fría bajo refrigeración y buena agitación (manteniendo la t° por debajo de 0° C) hasta completar 100 cc. Se obtuvo un precipitado que se dejó en gabinete frío durante la noche. Filtrado y secado pesó 2.4 g. (67.2%) y tuvo un punto de fusión 168-170° C (s. c.). Recristalizado de 75 cc. de agua dio 1.8 g. (50%). La muestra para análisis se recristalizó dos veces de agua y tenía un punto de fusión de 180-81° C (con descomposición). Análisis: C = 50.94 H = 5.17 N = 9.91%; requiere por cálculo C = 51.07 H = 5.00 N = 9.93%.

c) 3-*p*-nitrofenil O,N dimetilserina. 0.23 g. de II b se suspendieron en 5 cc. de ácido clorhídrico aproximadamente 3N; se calentó 2 horas a 100° C; el producto se disolvió a la hora y media. Se enfrió y se añadieron 5 cc. de solución 2 N de soda cáustica, luego acetato de sodio hasta un pH aproximado a 5. Se produjo precipitación. Se filtró, lavó con agua y luego con acetona y se secó. Pesó 178.7 mg. (66.7%). Punto de fusión: 265° C. Su análisis fue: C = 51.72 H 5.56 N: 11.28%; calculado teóricamente C: 51.96 H: 5.55 N = 11.02%.

d) *Ensayo de demetoxilación.* 500 mg. de II b se suspendieron en 5 cc. de ácido bromhídrico concentrado. Se calentó hasta 140°, subiendo una vez a 180° C, durante 3½ horas. Al día siguiente se observó abundante cristalización. Se filtró y se lavó con un poco de agua. Pesó 310 mg. Se disolvieron en 5 cc. de ácido clorhídrico normal que se llevó a pH 5 con acetato de sodio. Se obtuvieron 139 mg. El punto de fusión subió de 230 a 246° C. Su análisis mostró abundante (2/3 partes) de aminoácido sin demetoxilar, en cromatografía sobre papel usando butanol 4-ácido acético-1-agua 5.

RESUMEN

Estudiamos los productos, el curso de la reacción del ácido 2-bromo-3-hidroxi-3-fenil propiónico con el amoniaco y comprobamos que se producen varios compuestos, entre ellos presumiblemente, igual R_F en tres desarrolladores, eritrofenilserina.

Preparamos los siguientes intermedios para una síntesis de hidroxifenilserinas:

1) Acido 2-bromo 3-metoxi 3-*p*-metoxifenilpropiónico p. f. 149-51° C (s. c.).

2) Acido 2-metilamino 3-metoxi 3-*p*-metoxifenilpropiónico p. f. 209-210° C.

3) Acido 2-formilmetilamino 3-metoxi 3-fenil propiónico p. f. 135-135,5° C.

4) Acido 2-formil metilamino 3-metoxi 3-*p*-nitrofenil propiónico p. f. 180-181° C.

5) Acido 2-metilamino 3-metoxi 3-*p*-nitrofenil propiónico p. f. 265° C.

Pero no logramos el aislamiento de productos demetoxilados.

SUMMARY

We have studied the reaction of the products of 2-bromo-3-hydroxy-3-phenyl propionic acid with ammonia, and demonstrated that several compounds are formed, among them presumably (same R_F in three solvent systems) erythro phenyl serine.

We prepared the following intermediates for a synthesis of *p*-hydroxyphenyl N-methyl serine:

1) 2-Bromo 3-Methoxy 3-*p*-methoxyphenyl propionic acid m. p. 149-151 (Unc.).

2) 2-Methylamino 3-methoxy 3-*p*-methoxyphenyl propionic acid m. p. 209-210.

3) 2-Formyl methylamino 3-methoxy 3-phenyl propionic acid m. p. 135-136° C.

4) 2-Formyl methylamino 3-methoxy 3-*p*-nitrophenyl propionic acid m. p. 180-1° C.

5) 2-Methylamino 3-methoxy 3-*p*-nitrophenyl propionic acid m. p. 265° C.

But were unable to isolate the products from demethoxylation.

BIBLIOGRAPHY

1. Perea-Sasiain, J. — *Rev. Fac. Med.* **34**: 25 (1966).
2. Rosenmund, K. W., y Dornsafft, H. — *Ber.* **52B**, 1734 (1919).
3. Knoop, F. — *Ber.* **52 B**, 2266. (1919).
4. Dalgleish, C. E., y Mann, F. G. — *J. Chem. Soc.* 1947, 658.
5. Dalgleish, C. E. — *J. Chem. Soc.* 1949, 90.
6. Rebstock, M. C., Crooks Jr., H. M. Controulis J. y Bartz, Q. R. *J. Am. Chem. Soc.* **71**: 2458 (1949).
7. Bergmann, E. D., Bendas, H., y Taub, W. — *J. Chem. Soc.* 1951, 2673.
8. Holland, D. O., Jenkins, P. A., y Naylor, J. H. C. — *J. Chem. Soc.* 1953, 273.
9. Bolhoffer, W. A. — *J. Am. Chem. Soc.* **76**: 1322 (1954).
10. Ehrhart, G., y Herning, I. — *Ber.* **87**, 892 (1954).
11. Hartung, W. H., Mattocks, A. N., y Ellin, R. I. — *J. Pharm. Sci.* **53**, 550 (1964).
12. Phillips, A. P. — Comunicación personal, Nov. 25, 1958.
13. Havinga, E., y Spitzer, E. L. M. T. — *Rec. trav. chim.* **76**, 523, 1957.
14. Havinga, E. — Comunicación personal. Dec. 13, 1958.
15. Billet, D. — *Compt. rend. Acad. Sci.* **242**, 2159 (1956).
16. Hajos, A. — *Acta chim. Acad. Sci. hung.* **21**, 262, (1959).
17. Carter, H. E., y Van Loon, E. J. — *J. Am. Chem. Soc.* **60**, 1077 (1938).
18. Forster, M. O., y Rao, K. A. N. — *J. Chem. Soc.* 1926, 1947.
19. Kollonitsch, J., Hajos, A., Gabor, V., y Kraut, M. — *Acta Chim. Acad. Sci. hung.* **5**, 18 (1954).
20. Negoro, K. — *J. Chem. Soc. Japan* **73**, 10 (1952).
21. Grovenstein, Jr., E. — Comunicación personal. Octubre 21 de 1958.
22. Shaw, K. N. F., y Fox, S. W. — *J. Am. Chem. Soc.* **75**, 3417 (1953).
23. Drell, W. — *J. Am. Chem. Soc.* **77**, 5429 (1955).
24. Buckles, R. F., Filler, R., y Hiltman, L. *J. Org. Chem.* **17**, 233 (1952).
25. Buckles, R. E. — Comunicación personal. Ene. 7, 1959.
26. Du Vigneaud, V., y Meyer, C. E. — *J. Biol. Chem.* **98**, 302 (1932).
27. Read, J., y Williams, M. M. — *J. Roy Soc. N. S. - Wales*, **51**, 558 (1917).