

Tesis de Posgrado

Algunas reacciones del imidazol-4-(5)-formaldehído : nueva síntesis de la dl-histidina y la dl-N-metil-histidina

Mitta, Aldo Emilio Antonio

1946

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Mitta, Aldo Emilio Antonio. (1946). Algunas reacciones del imidazol-4-(5)-formaldehído : nueva síntesis de la dl-histidina y la dl-N-metil-histidina. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0450_Mitta.pdf

Cita tipo Chicago:

Mitta, Aldo Emilio Antonio. "Algunas reacciones del imidazol-4-(5)-formaldehído : nueva síntesis de la dl-histidina y la dl-N-metil-histidina". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1946.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0450_Mitta.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

ALGUNAS REACCIONES DEL DIXASOL-4-(5)-FORMALDEHIDO

NUEVA SINTESIS DE LA
DL-HISTIDINA Y LA DL-N-METIL-HISTIDINA

por Aldo Emilio Antonio Nitta

**Tesis presentada para optar al grado de Doctor en Química
en la Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales
de la Universidad de Buenos Aires**

Padrino de Tesis: Doctor Venancio Deulofeu.

1 9 4 6

Esta tesis fué iniciada a fines del año 1942, en el Instituto Bacteriológico de la Secretaría de Salud Pública, siendo director el Dr. A. Serdelli y terminada a fines del año 1946, en el Instituto de Fisiología de la Facultad de Ciencias Médicas, durante la dirección de los Drs. B. Houssey y H. Rubio sucesivamente.-

Actué como padrino de tesis el Dr. V. Deulofeu.-

Los análisis químicos de las substancias los efectuaron el Dr. R. Labriola y la Dra. B. Berinsaghi.-

A las personas nombradas y aquellas que de una u otra forma han cooperado a la realización de ésta tesis, les expreso mi sincero agradecimiento.-

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'Rubio', written over a horizontal line.

100000

100000

100000

100000

100000

100000

100000

100000
PART 1

100000

100000

100000

100000

100000

100000

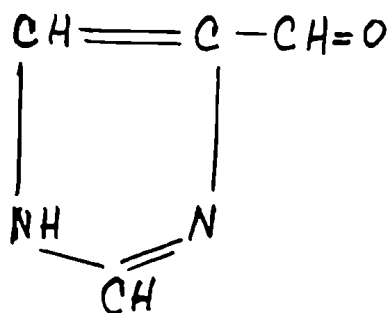
100000

100000

100000

ALGUNAS REACCIONES DEL IMIDAZOL-4(5)-FORMALDEHIDO

El imidazol 4(5)-formaldehido fué preparado por primera vez por Pyman (1912) por oxidación del alcohol correspondiente con anhídrido crómico en caliente.- Funde a 173°-174°.



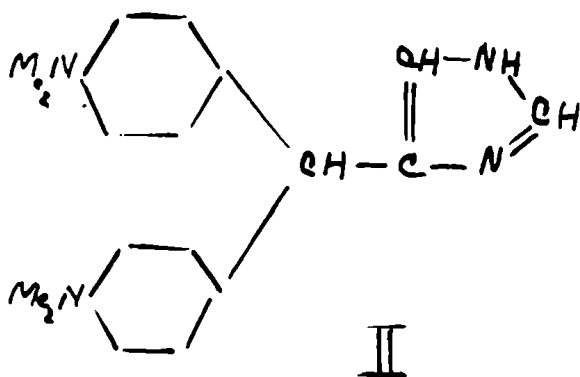
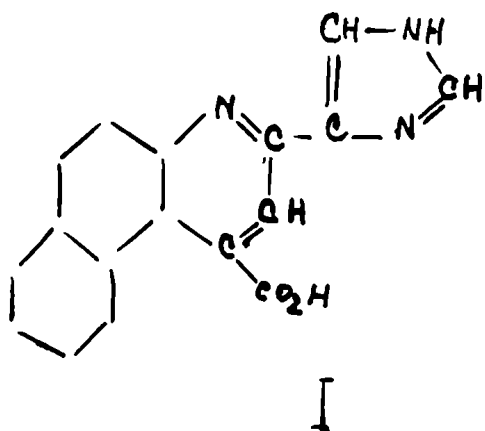
Da un oxalato ácido que funde a 191° y un picrato que funde a 195°.-

Este mismo autor obtuvo posteriormente con Fargher (1916) el mismo aldehido por oxidación del alcohol con ácido nítrico, lo cual da un mejor rendimiento que el método anterior. En esa oportunidad prepararon la fenilhidrazona que funde a 199° y realizaron una nueva síntesis de la di-histidina condensando el aldehido con ácido hipúrico y siguiendo las líneas clásicas del método de Erlennmeyer.- Demostraron que el aldehido se condensa con ácido cianhídrico para dar la cianhidrina correspondiente que es muy inestable.-

Las reacciones del imidazol-4(5)-formaldehido fueron estudiadas muy posteriormente por Hubball y Pyman (1928)/////

//////quienes demostraron que se condensa con anilina dando la base de Schiff de punto de fusión 142°-143°, con hidroxilamina dando una oxima de punto de fusión 181°, con semicarbazida dando una semicarbazona de punto de fusión 223°-224° y que reaccionaba con bisulfito de sodio formando el correspondiente compuesto de adición.-

A pesar de las reacciones anteriores los autores señalan que a veces no daba otras típicas de los aldehidos, por ejemplo no da el ácido acrílico cuando se le quiere condensar con ácido acético según el método de Perkin, no se pudo condensar con acetona y la condensación con acetofenona y etilacetato sólo se realiza con bajos rendimientos.- En cambio pudieron condensarlo con ácido pirúvico y β naftilamina para dar el compuesto I y con dimetilanilina para dar el compuesto II

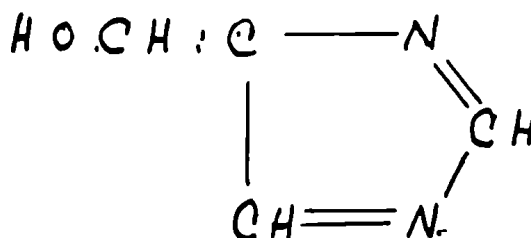


Estas reacciones son generales de los aldehidos; así la reacción I es análoga a la que da el benzaldehido con ácido pirúvico y β -naftilamina, descrita por Döebner y Kuntze (1888) y la II es análoga a la conocida leucobase de verde de malaquita que se obtiene cuando se condensa el benzaldehido con dimetilanilina.-

La dificultad de obtener el ácido acrílico correspondiente había sido ya encontrada por Barger y Dakin (1916) quienes condensaron el aldehido con ácido malónico pero no pudieron producir la decarboxilación necesaria para llegar hasta él.-

Además no se oxida al aire, no da la reacción de Cannizzaro y su grupo aldehídico no reacciona con yoduro de metilmagnesio.-

En resumen se puede decir que el imidazol-4(5)-formaldehido no presenta todas las propiedades típicas de los aldehidos y en cambio se asemeja a ciertas sustancias de esa clase de compuestos de características un poco especiales como los orto y para hidroxibenzaldehidos y aldehido α pirrólico los cuales no dan sin embargo muchas de las reacciones características del benzaldehido.- En común con estas sustancias el comportamiento del imidazol-4(5)-formaldehido se puede atribuir a la transformación de su grupo aldehídico en una forma tautómera representada por la fórmula siguiente:



La materia prima necesaria para la obtención del imidazol-4(5)-formaldehído fue obtenida por Pymen (1911) por una larga serie de reacciones a partir de ácido cítrico.-

ACIDO CITRICO



ACIDO ACETONDICARBOXILICO



DIISONITROSOACETONA



CLORHIDRATO DE DIAMINOACETONA



2 TRIO 4(5) AMINOMETILIMIDAZOL



4(5) HIDROXIMETILIMIDAZOL

La principal dificultad para realizar estudios con el imidazol-4(5)-formaldehído, fue porque no se podía obtener

///en cantidad, afortunadamente su preparación en gran escala ha sido solucionada en los últimos años; se basa en una reacción, estudiada inicialmente por Girard y Parrod (1930) quienes fueron los primeros en encontrar que la oxidación de la fructosa en medio amoniacal, en presencia de sales de cobre con corriente de aire conduce al 4(5)-hidroximetilimidazol.-

Este método fue ulteriormente estudiado por Parrod y Garreau (1932), Parrod (1932, 1933) quienes encontraron que la dioxiacetona permitía obtener también el 4(5)-hidroximetilimidazol.-

Weidenhager y colaboradores (1935, 1937) estudian esa reacción desde el punto de vista preparativo, pero los mejores resultados fueron obtenidos hace poco tiempo por Darby, Lewis y Totter (1942), Darby y Totter (1944) quienes controlando bien los detalles y añadiendo formol pueden obtener el alcohol mencionado con buenos rendimientos y lo aíslan como picrato.-

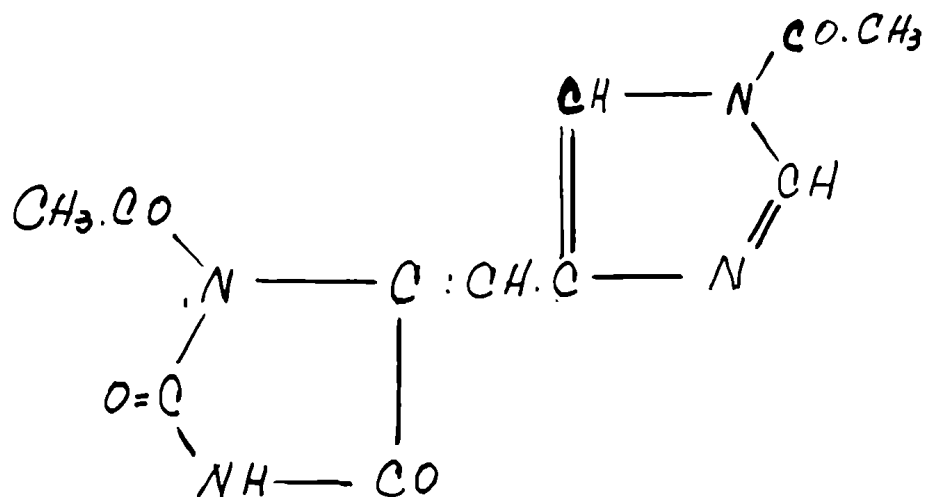
Posteriormente Alberston y Archer (1945) lograron prepararlo a partir de sacarosa en vez de levulosa aunque con rendimientos menores.-

El alcohol preparado por nosotros lo ha sido por el método de Darby, Lewis y Totter (1942), aislandolo como picrato, que fue transformado en alcohol según Pymen (1911) y finalmente a aldehído por oxidación con ácido nítrico según Pymen y Fargher (1916).-

///

Hemos podido comprobar que el imidazol-4(5)-formaldehído se condensa con relativa facilidad con una serie de sustancias que tienen un grupo metilénico activo.-

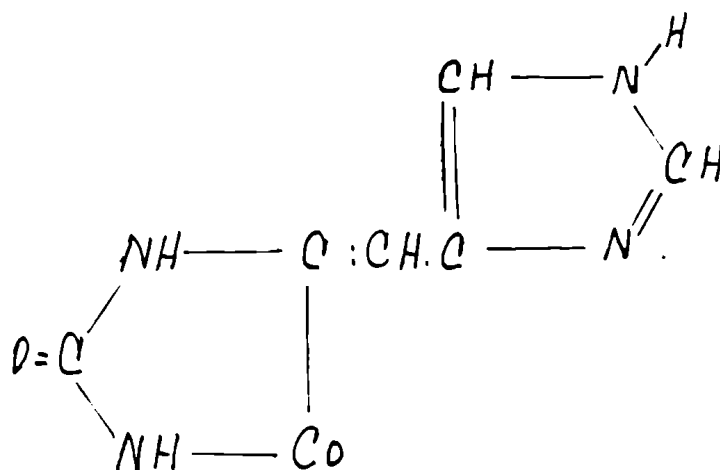
La condensación puede llevarse a cabo con hidantoina por medio de anhídrido acético y acetato de sodio fundido, obteniéndose el acetil-1(3)-imidazol-4(5)-metilenoacetil-1-hidantoina



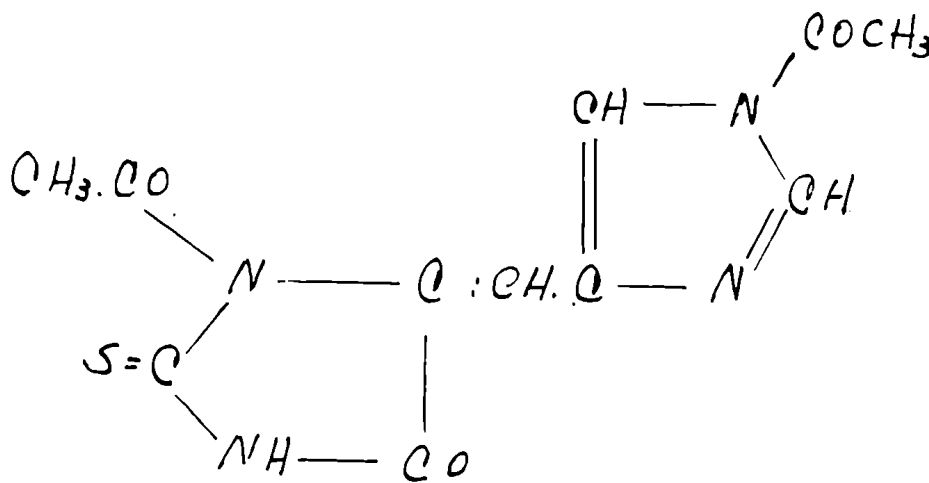
y por medio de la piperidina por el método de Boyd y Robsen (1935) en cuyo caso se obtuvo el imidazol-4(5)-metilenoimidantoina

//////

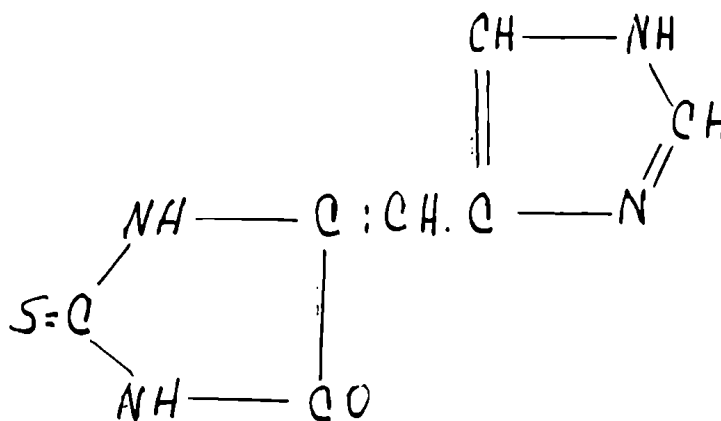
////



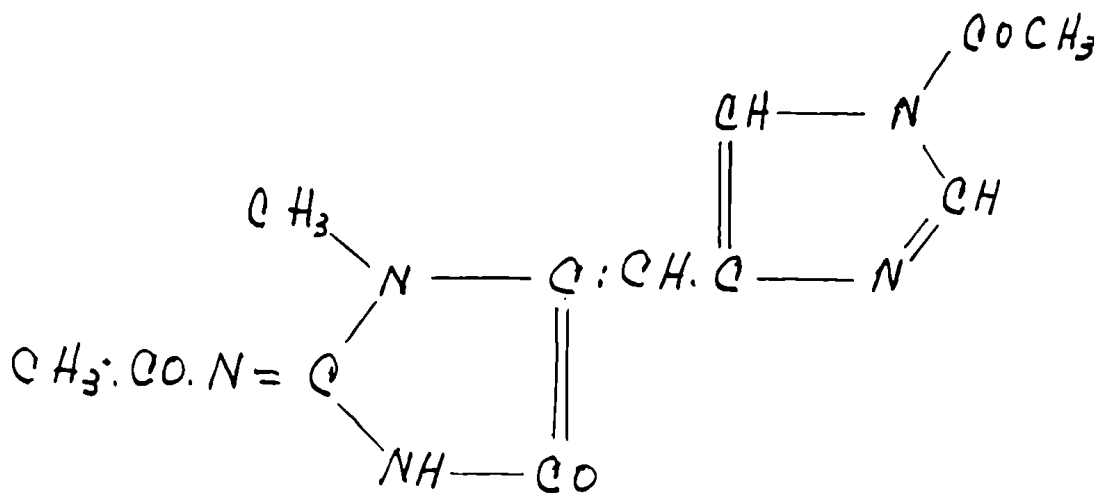
Los mismos resultados se obtuvieron empleando tishi-
dantoína que dió el siguiente compuesto, cuando se emplea an-
hidrido acético y acetato de sodio fundido:



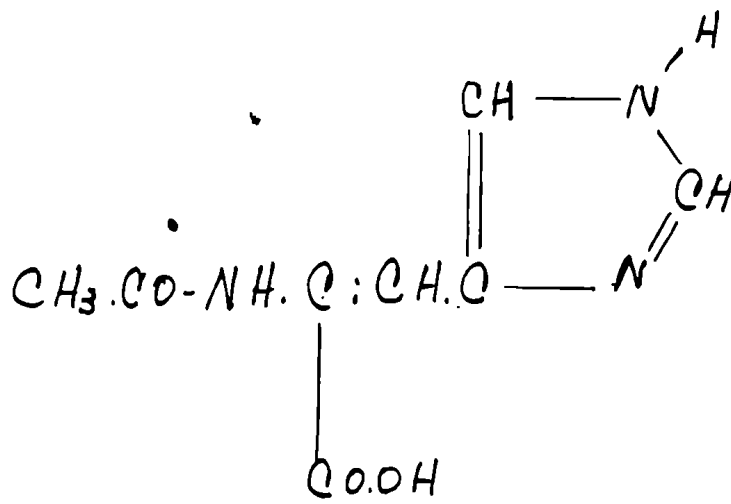
Tambien se pudo condensar con acetilthiohidantoína bajo la acción de la piperidina en cuyo caso da el imidazol-4(5)-metilentioidantoína



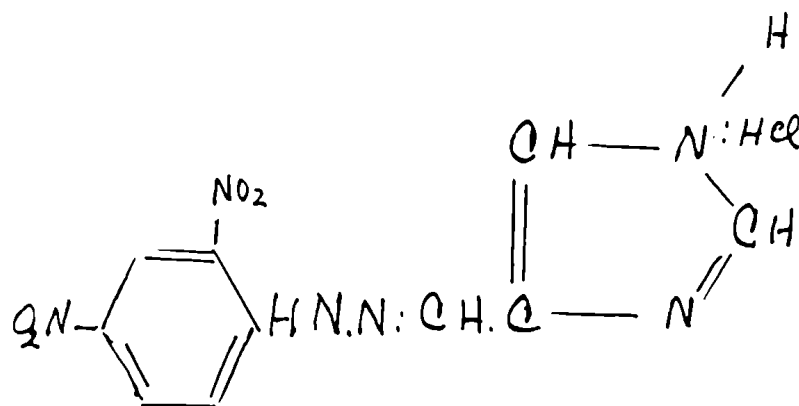
Una condensación igual se obtuvo con creatinina que solamente fué condensada en presencia de anhídrido acético y acetato de sodio fundido dando el acetil-1(3)-imidazol-4(5)-metilenoacetil-2-creatinina



También se condensa con ácido acético dando una α -lactona muy inestable que recristalizada de agua da un compuesto que por su análisis corresponde al ácido α acetilamino β imidazolaacrílico



Finalmente se preparó por el método corriente el clorhidrato del imidazol-4(5) metilén 2-4 dinitrofenilhidrazona de punto de fusión 291 $^{\circ}$ -292 $^{\circ}$



PARTE EXPERIMENTAL

PREPARACION DEL 4-(5)-HIDROXIMETILIMIDAZOL

Este compuesto fué preparado según Darby, Lewis y Tetter (1942), aislándose como picrato de punto de fusión 205°-208°.- El alcohol libre se obtuvo según Pyman (1911), eliminando el picrato por tratamiento con éter en medio ácido.-

Se recrystalizó de alcohol absoluto hasta punto de fusión 93°.-

PREPARACION DEL IMIDAZOL-4-(5)-FORMALDEHIDO

Se realizó según Pyman (1916) por oxidación del 4-(5)-hidroximetilimidazol con ácido nítrico D. 1,42.- Se emplearon cantidades pequeñas en cada oxidación, habitualmente de 2 gramos.-

Se usaron para las condensaciones los cristales de punto de fusión 170°, sin ulterior purificación.-

ANEXO EXPERIMENTAL

PREPARACION DEL

ACETIL-1-(3)-IMIDAZOL-4(5)-METILENACETIL-1-HIDANTOINA

Se mezclan bien 2 gramos de imidazol-4(5)-formaldehído con 4 gramos de hidantoína y 4 gramos de acetato de sodio fundido.- Se añaden 16 mililitros de anhídrido acético; y calienta en baño de aceite media hora a 135°.-

Al calentar se disuelven las sustancias a excepción de un poco de acetato de sodio y en un cierto momento precipita el producto de condensación bajo forma de cristales amarillos oscuros.- Terminado el calentamiento se añade agua para descomponer el anhídrido acético.-

Se deja en la cámara fría hasta el día siguiente, se filtra el precipitado, se seca y recrystaliza de anhídrido acético hirviendo, al que se le añade ácido acético hirviendo hasta disolución total del compuesto.- Por enfriamiento se obtienen cristales de color amarillo oscuro que recrystalizados de la misma manera funden a 246°.-

Rendimiento: 2,9 gramos (63%)

ANALISIS: 3,49 mgr. de sustancia dieron 0,628 cc. de N (19,5°
-764,5 mm)

11 Calculado para: $C_7H_4O_2N_4(CO.CH_3)_2$ 21.97%

Encontrado: $C_7H_4O_2N_4(CO.CH_3)_2$ 20.81%

ACETILOS:

Calculado para: $C_7H_4O_2N_4(CO.CH_3)_2$ 32.84%

Encontrado: $C_7H_4O_2N_4(CO.CH_3)_2$ 31.84%

PREPARACION DEL IMIDAZOL-4(5)-METILENHIDANTOINA

0,1 gramo de imidazol-4(5)-formaldehido se mezcla bien con 0,15 gramo de hidantoina y 0,26 mililitros de piridina, se añade 0,15 mililitros de piperidina y se calienta a baño maría (100°) durante dos minutos.- Los productos sólidos se disuelven y el líquido toma color rojizo.-

Finalizado el calentamiento se enfría, se añade agua y ácido acético hasta precipitación máxima.- Los cristales de color amarillo claro, se filtran y lavan con agua, una vez secos se les determina el punto de fusión 235° (con descomposición) con ennegrecimiento previo.-

Recristalizado dos veces de agua, se obtienen prismas de color paja de punto de fusión 237°, que a un calentamiento rápido ennegrecen desde 270°.-

Muy soluble en acético, poco en etanol de donde////

////puede recristalizarse.-

ANALISIS: 3,900 mgr. de substancia dieron 1,07 cc. de N
(21°-760 mm)

Calculado para: $C_7H_6O_2N_4$ 31.46%

Encontrado: $C_7H_6O_2N_4$ 31.26%

Los cristales anteriores se hierven cinco minutos con anhídrido acético, en cantidad suficiente para disolverlos. Por enfriamiento se obtienen cristales amarillos obscuros, que recristalizados nuevamente de anhídrido acético funden a 245°-247° y son idénticos con el acetil-1-(3)-imidazol-4-(5)-metilacetil-1-tiohidantoína.-

PREPARACION DEL

ACETIL-1(3)-IMIDAZOL-4(5)-METILACETIL-1-TIOHIDANTOINA

0,2 gramos de imidazol 4(5)-formaldehido se mezclan bien con 0,4 gramos de tiohidantoína y 0,4 gramos de acetato de sodio fundido, se añade 1,6 mililitros de anhídrido acético y se calienta a baño de aceite (135°) durante veinte minutos.-

Al calentar se disuelven las substancias y en un cierto momento precipita el producto de condensación, bajo////

////forma de cristales amarillos.-

Terminado el calentamiento se añade agua para descomponer el anhídrido acético, se enfría bien, se filtra y determina el punto de fusión: 250°.-

Se recristaliza el precipitado de anhídrido acético hirviendo, al que se añade ácido acético poco a poco hasta disolución total del producto.- Por enfriamiento se obtienen cristales de color amarillo que recristalizados nuevamente funden a 257°.-

ANALISIS: 4,310 mgr. de sustancia dieron 0,738 cc. de N
(19°-768 mm)

Calculado para: $C_7H_{10}ON_4S(OO.C_2H_5)_2$ 20.14%

Encontrado: $C_7H_{10}ON_4S(OO.C_2H_5)_2$ 19.82%

PREPARACION DEL IMIDAZOL-4(5)-METILENTIOHIDANTOINA

0,1 gramo de imidazol-4(5)-formaldehído se mezcla bien con 0,15 gramos de acetiltiohidantoina y 0,26 mililitros de piridina, se añade 0,15 mililitros de piperidina y se calienta a baño maría (100°) durante dos minutos.-

Al calentarse se disuelven las sustancias, el////

///líquido toma color rojizo y en un cierto momento precipita el producto de condensación bajo forma de cristales rojizos.-

Una vez finalizado el calentamiento se añade 5,2 mililitros de agua, los cristales se disuelven y por enfriamiento aparece de nuevo un precipitado cristalino de color amarillo obscuro.-

Poco soluble en agua, es soluble en acético y etanol pudiendo recristalizarse de ambos.-

Recristalizado de etanol, con carbón da prismas amarillos de punto de fusión 320° con descomposición y ennegrecimiento desde 310°.-

ANÁLISIS: 3,630 mgr. de sustancia dieron 0,89 cc. de N
(21°-762,5 mm)

Calculado para: $C_7H_6ON_4S$ 28.86%

Encontrado: $C_7H_6ON_4S$27.99%

Una pequeña porción de los cristales anteriores hervida con anhídrido acético da por enfriamiento acetil-1(3)-imidazol-4(5)-metilenoacetil-1-tionidantoina de punto de fusión 257°.-

PREPARACION DEL
ACETIL-1(3)-IMIDAZOL-4(5)-FENILACETIL-1-CREATININA

1,5 gramos de imidazol-4(5)-formaldehido se mezclan bien con 3 gramos de creatinina y 3 gramos de acetato de sodio fundido, se añade 12 mililitros de anhídrido acético y se calienta a baño de aceite (135°) durante media hora.- En un momento dado comienzan a aparecer cristales del producto de condensación.-

Terminado el calentamiento se añade abundante cantidad de agua que descompone al resto del anhídrido acético y da término la formación de más precipitado.-

Se deja reposar un día en la heladera y se filtra, y una vez bien seco (punto de fusión 230°-233°) se recristaliza varias veces de una mezcla de anhídrido acético y ácido acético obteniéndose bajo forma de cristales amarillos oscuros, con punto de fusión 261° con descomposición.-

ANÁLISIS: 3,290 mgr. de sustancia dieron 0,741 cc. de N
(17°-763 mm)

Calculado para: $C_8H_4ON_5$ (co. C_4H_3)... 25.45%

Encontrados: $C_8H_4ON_5$ (co. C_4H_3)..... 26.08%

PREPARACION DEL ACIDO α ACETILAMINO β IMIDAZOLACRILICO

Se mezclan bien 0,4 gramos de imidazol(4,5)-formaldé- hido con 1 gramo de ácido acético y 0,8 gramos de acetato de sodio fundido.- Se añade 3,2 mililitros de anhídrido acético y se calienta a baño maría (100°) durante veinte minutos.-

Al calentar se disuelven las sustancias, terminado el calentamiento, y enfriando aparece un precipitado de color amarillo rojizo, se añade agua para componer el anhídrido acé- tico y se forma una solución rojiza, agitando y enfriando apa- rece un precipitado cristalino, que filtrado y lavado con agua funde a 101°.-

Al recrystalizar de agua, la az-lactona se descompo- ne y da el ácido α acetilamino β imidazolacrílico de punto de fusión 280°.-

Rendimiento del producto impuro 0,45 gramos.-

ANALISIS: 4,070 mgr. de sustancia dieron 0,75 cc. de N (13a-766 mm)

Calculado para: $C_6H_6O_2N_3(CO.CH_3)$ 21.53%

Encontrado: $C_6H_6O_2N_3(CO.CH_3)$ 21.33%

PREPARACION DEL

CLORHIDRATO DEL IMIDAZOL-4(5)-METILIN 2-4-DINITROFENILHIDRAZONA

0,4 gramos de 2-4-dinitrofenilhidracina se disolvió en 80 mililitros de alcohol etílico (95% hirviendo y se añadió a una solución de 0,2 gramos de imidazol 4(5) formaldehído disuelto en alcohol etílico (95%) hirviendo.-

Se calentó todo durante varios minutos, se agregó luego 0,4 mililitros de ácido clorhídrico, y se volvió a calentar a ebullición 4 minutos, se enfrió y filtró el precipitado de punto de fusión 290°-292°.-

Se recristalizó de ácido acético 50% dando un producto de punto de fusión 291°-292°.-

ANALISIS: 3,850mgr. de substancia dieron 0,89 cc. de N
(19°-763,3 mm)

Calculado para: $C_{10}H_8O_4N_6 \cdot HCl$... 26.88%

Encontrado: $C_{10}H_8O_4N_6 \cdot HCl$ 26.43%

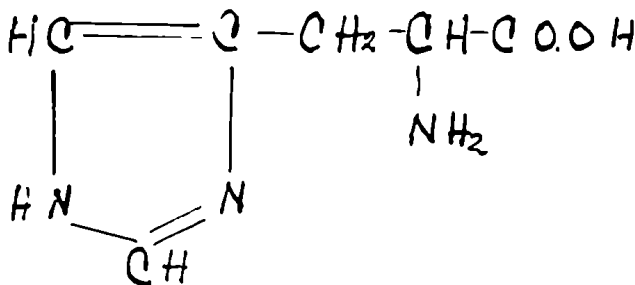
THE
OF
EAST
COAST

DL-HISTIDINA

La histidina es una de los aminoácidos básicos que forma parte de las llamadas bases oxónicas de Kessel.-

Su aislamiento a partir de proteínas naturales (proteínas) fué llevado a cabo en forma casi simultánea, pero independientemente por Kessel y Hedin.- Los detalles de éste aislamiento han sido descriptos por Vickery y Schmidt (1931).-

Su estructura fué aclarada inicialmente por Pauly (1904), quien estableció la existencia de un núcleo imidazólico en el aminoácido y atribuyó al mismo, aunque sin prueba definitiva, la fórmula estructural que las investigaciones posteriores han confirmado.-

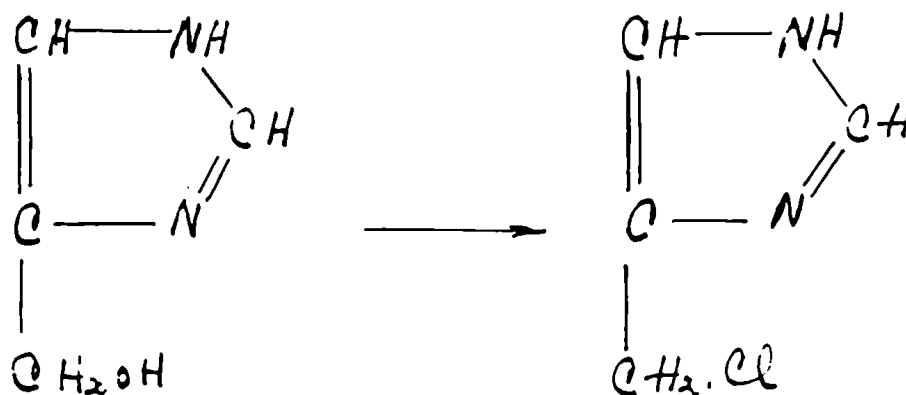


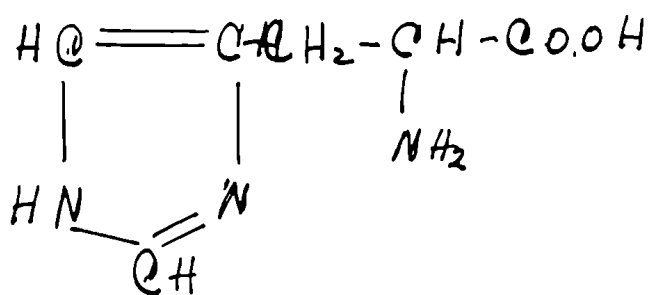
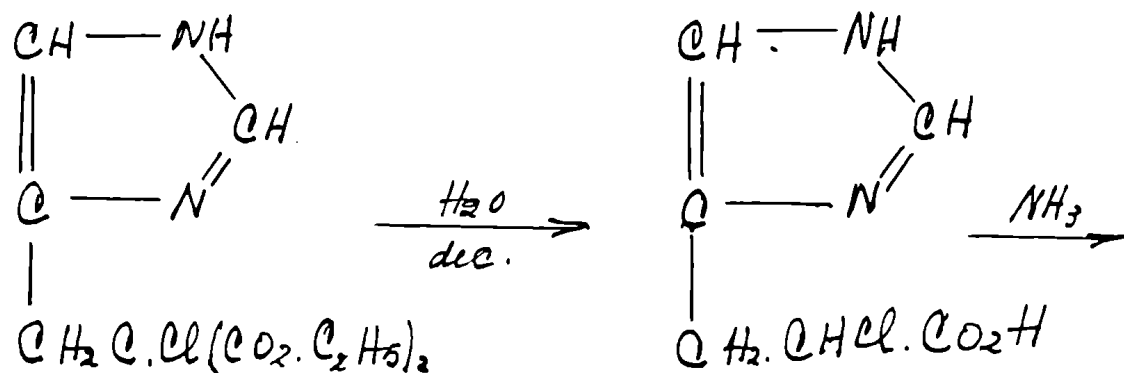
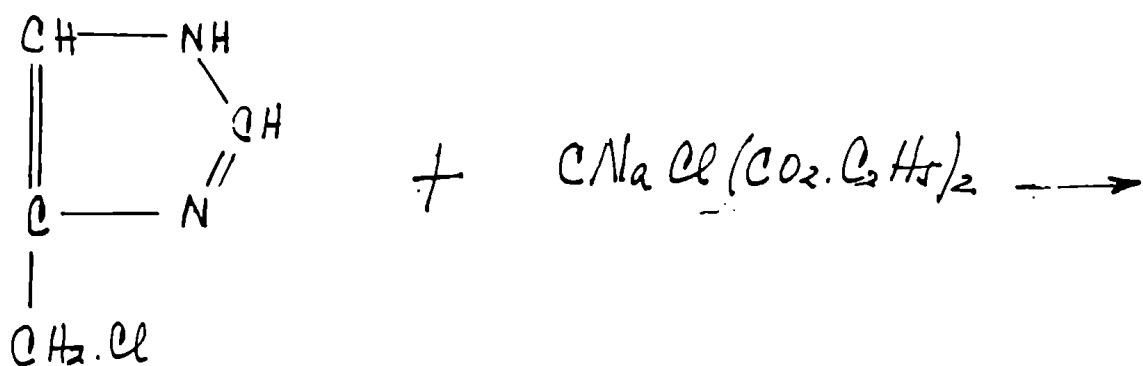
La presencia de un grupo imidazólico en la histidina, fué confirmado por Knoop y Windaus (1906), y su estructura total, coincidente con la propuesta por Pauly (1904) demostrada por síntesis posteriores realizadas por Pyman (1911).-

Este autor llevó a cabo la primera síntesis de la histidina racémica partiendo del 4-(5)-hidroximetilimidazol que transformó en un derivado clorado sustituyendo el hidroxilo por cloro por métodos corrientes.- La condensación de éste 4-(5)-clorometilimidazol con sodiocloromalonato de etilo, le dió 4-(5)-imidazolmetilcloromalonato de etilo, que saponificando y decarboxilado por métodos clásicos le permitió obtener el ácido α -cloro- β -imidazol-4-(5)-propiónico.- Este último tratado con amoníaco condujo a la histidina racémica, que fué aislada como monoclorhidrato.-

Este mismo autor preparó el dipicrato que funde a 103° cuando se seca al aire poco tiempo; pero que bien seco funde a 190° con ablandamiento desde 183°.-

Primera síntesis de Bryan.





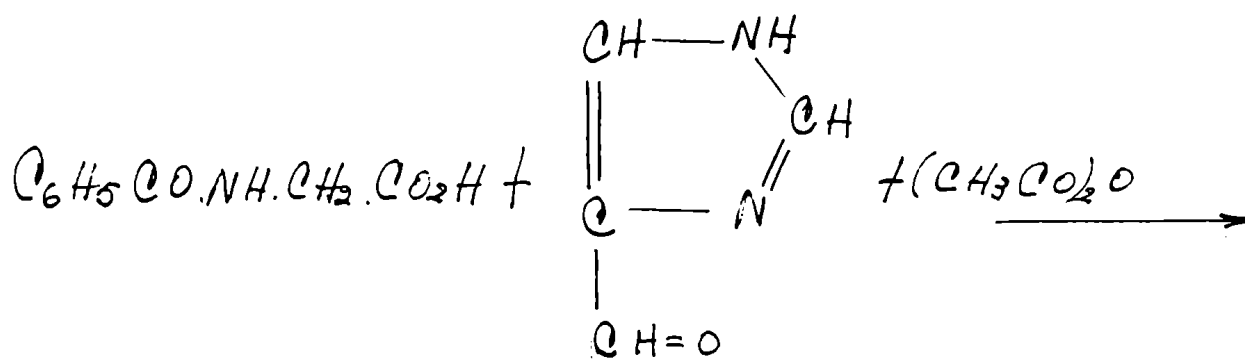
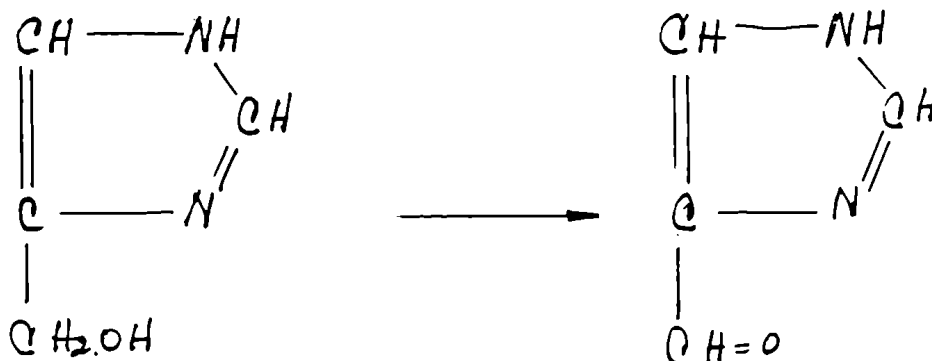
En este mismo trabajo, Pymán llevó a cabo el desdoblamiento de la histidina racémica, realizando así la primera síntesis de la l-histidina natural.-

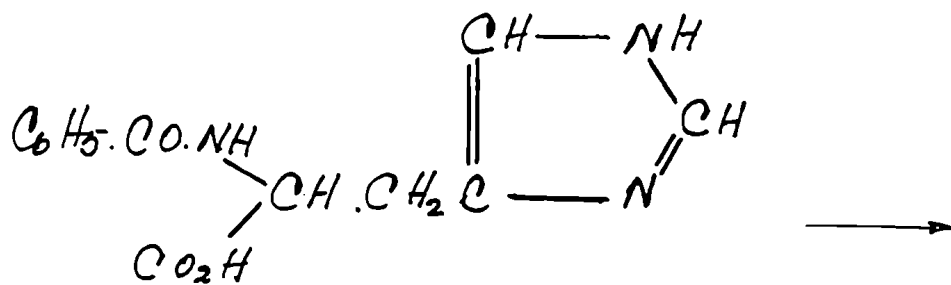
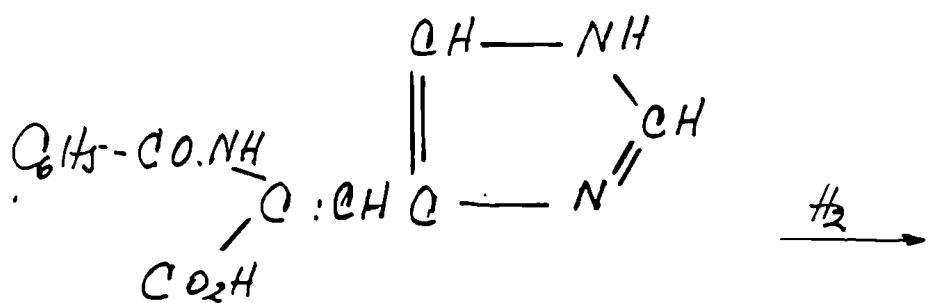
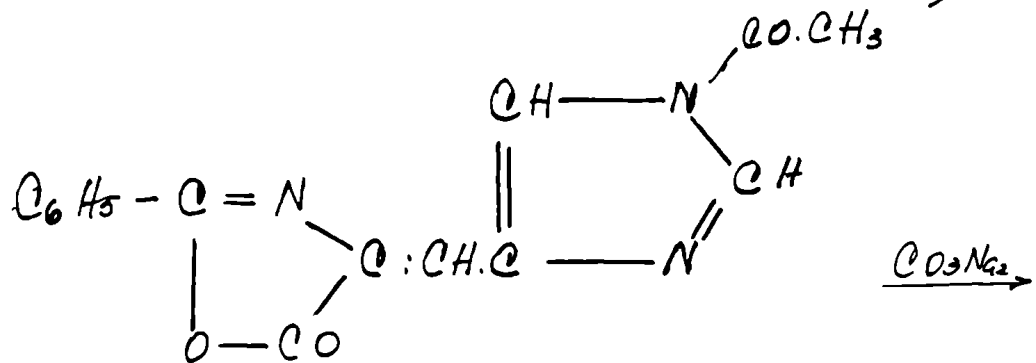
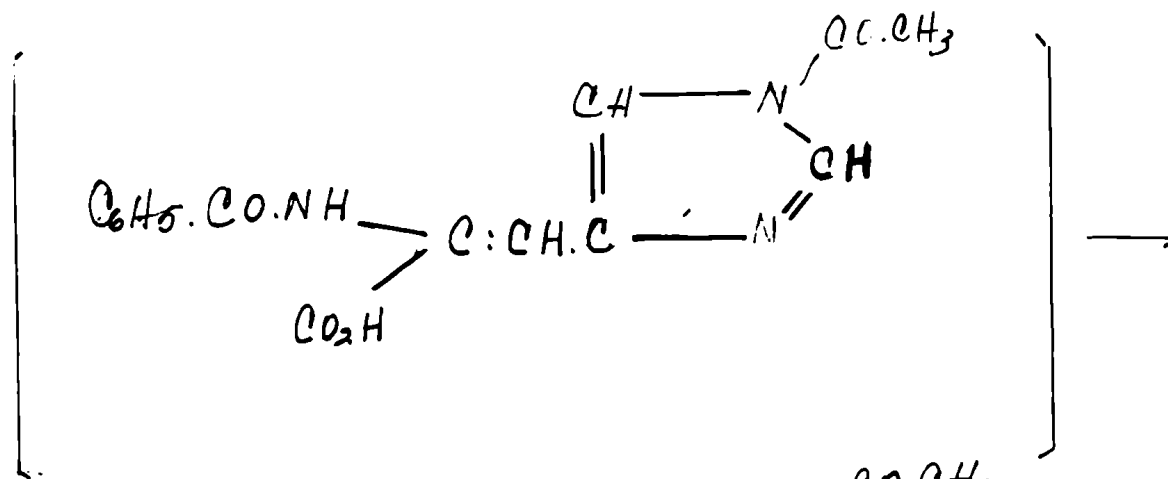
Pymán (1916), realizó una nueva síntesis de la hia//

///tidina partiendo del imidazol-4-(5)-formaldehído obtenido por oxidación del correspondiente alcohol; éste aldehído se condensa fácilmente con ácido hipúrico dando la az-lactona correspondiente de acuerdo con la conocida síntesis de Erlenneyer de los aminoácidos.-

Esta az-lactona contiene un grupo acetilo, que se admite reemplaza un átomo de hidrógeno del grupo imino del anillo imidazoico por la facilidad con que es eliminado por hidrólisis.- La az-lactona tratada con carbonato de sodio da el correspondiente ácido acrílico que fué reducido dando benzoilhistidina y por hidrólisis del benzilo se obtuvo directamente la histidina racémica.-

Segunda síntesis de Erman.-



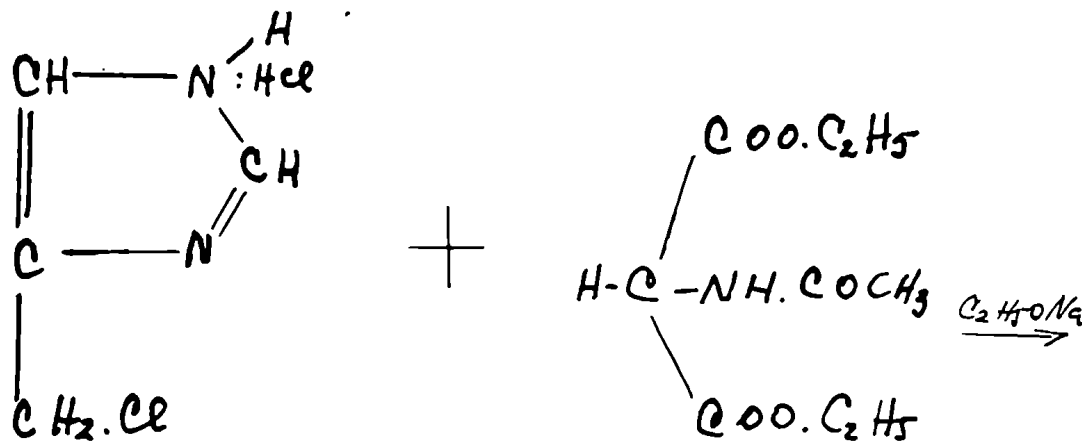


→ dl-Histidina

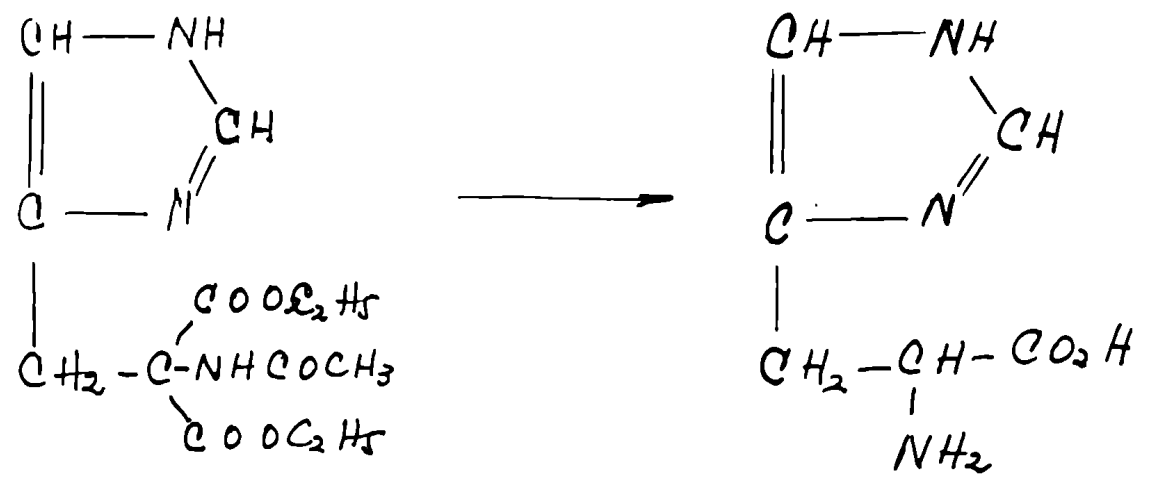
Posteriormente al trabajo realizado por nosotros^(*) y que se detalla a continuación, han sido publicados dos métodos más de preparación de la histidina.-

Uno de ellos por Alberston y Archer (1945), quienes condensaron el clorhidrato de 4-clorometilimidazol con acetamidomalonato de etilo en presencia de dos moléculas de etilato de sodio dando el 2-acetamido-2-carboetoxi-3-imidazolpropionato de etilo que por tratamiento con ácido clorhídrico concentrado conduce al diclorhidrato de histidina, que luego transforman en histidina.-

Síntesis de Alberston y Archer.-

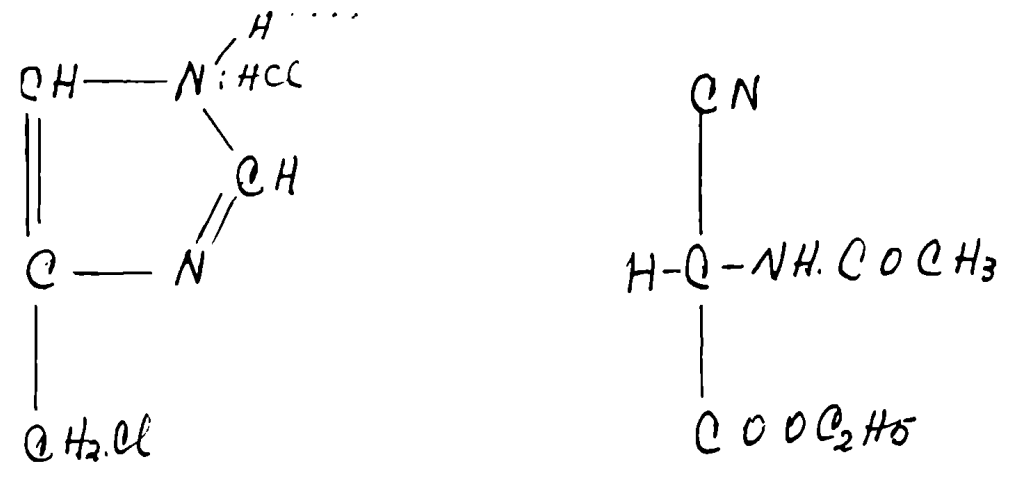


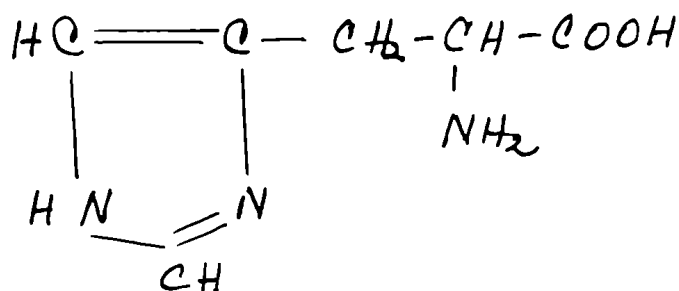
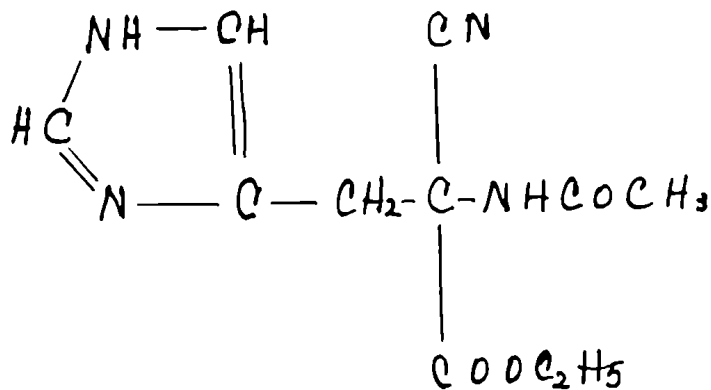
(*) Esta parte del trabajo fue realizada en el año 1944.-



Otro de los métodos es el de Alberston y Tullar (1945) quienes haciendo reaccionar el clorhidrato de 4-clorometilimidazol con α -acetoamino α -cianacetato de etilo obtuvieron el α -acetoamino α -cian β -imidazolpropionato de etilo, que por hidrólisis con ácido sulfúrico dió la di-histidina.

Síntesis de Alberston y Tullar.-





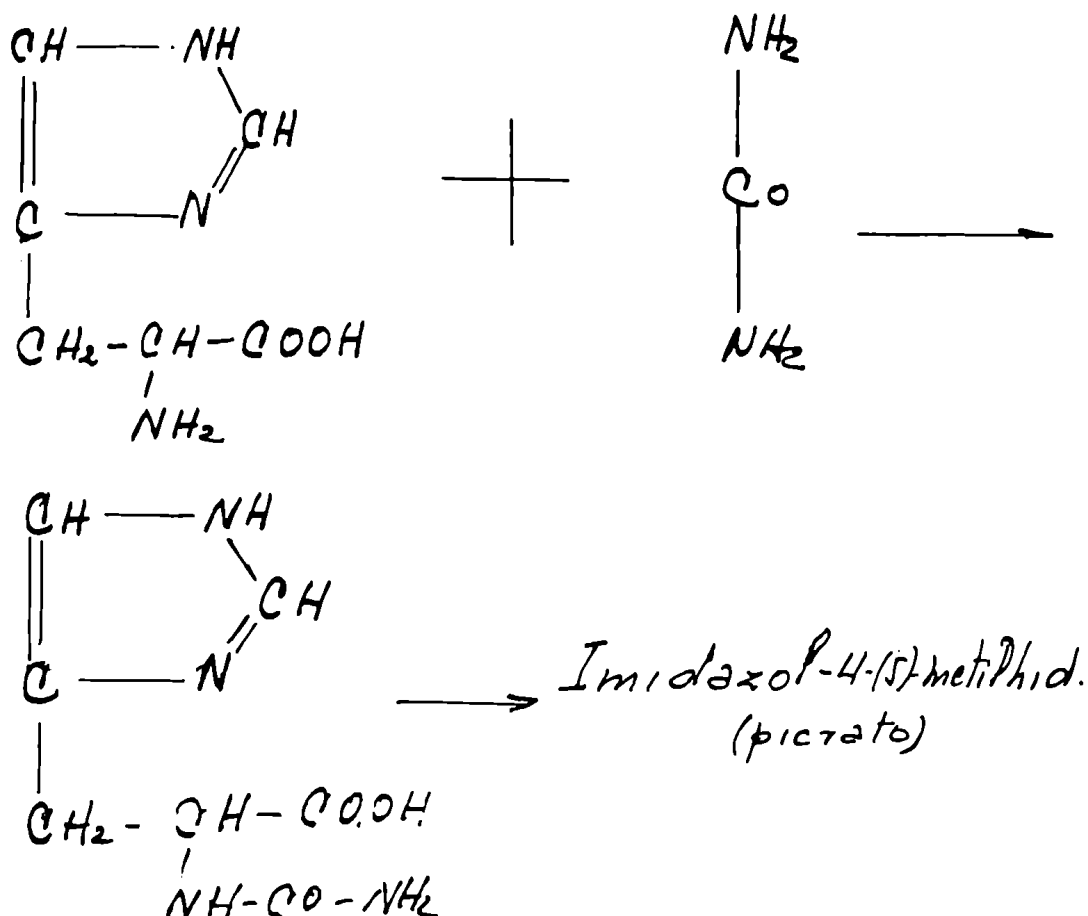
El método que nosotros hemos desarrollado consiste en la condensación de hidantoina con el imidazol-4(5)-formaldehído dando el acetil-1-(3)-imidazol-4-(5)-metilenacetil-1-hidantoina que ha sido descripta en la primera parte de éste trabajo, éste ha sido originado en el trabajo de Wheeler y Hoffman (1911) y aplicado en la síntesis de varios aminoácidos.-

Por reducción con amalgama de sodio del acetil-1-(3)-imidazol-4-(5)-metilenacetil-1-hidantoina se logra la reducción de la doble ligadura y eliminación de los dos acetilos obteniéndose el imidazol-4-(5)-metilhidantoina.-

Este compuesto resultó difícil de aislar como tal, pero fué sencillo obtenerlo como picrato que recristalizado funde a 210°-212°.- Este aislamiento como picrato no es necesario realizarlo para la preparación de la histidina.-

El picrato del imidazol-4-(5)-metilhidantoína preparado por nosotros parece ser el racémico del preparado por Shchukina (1940) quien lo obtiene haciendo reaccionar histidina con urea que da ácido uramino el que luego se convierte en imidazol-4-(5)-metilhidantoína acidificando con ácido clorhídrico y concentrando.- Lo aísla como picrato de punto de fusión 209°.-

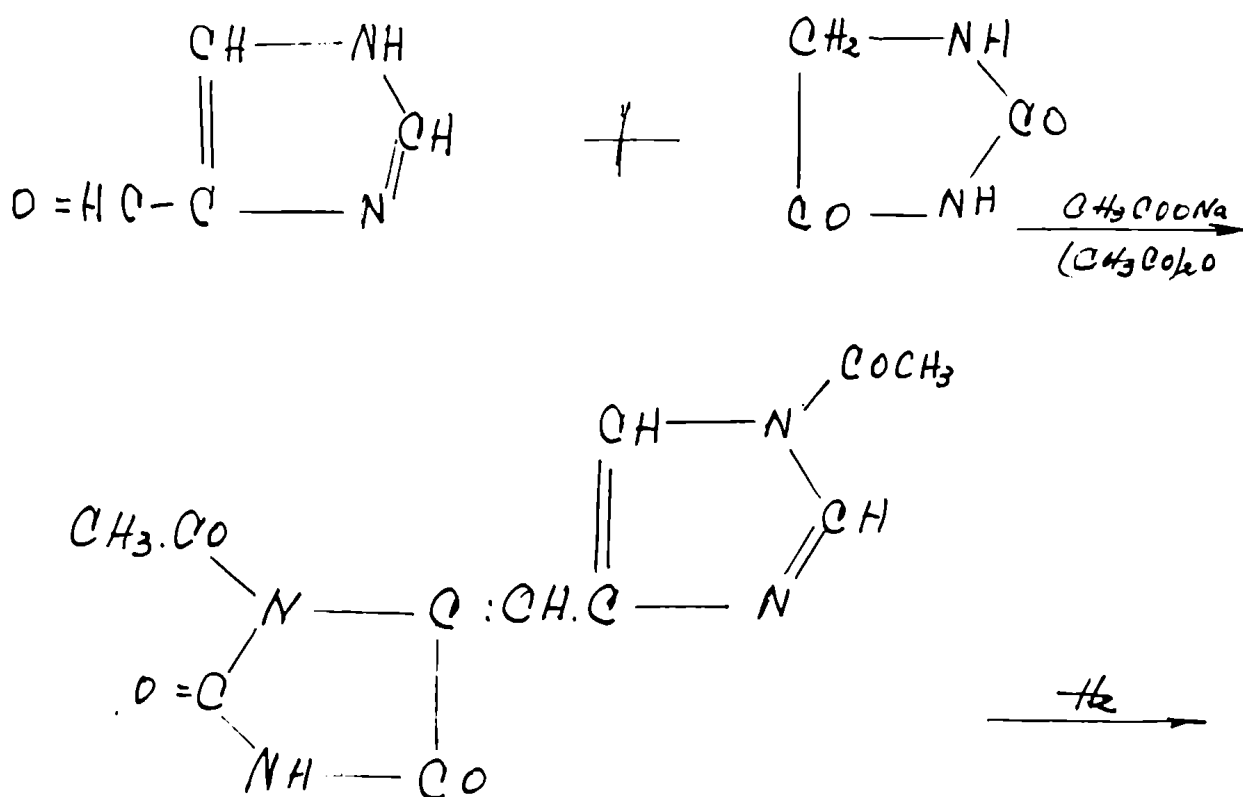
Método de Shchukina.-

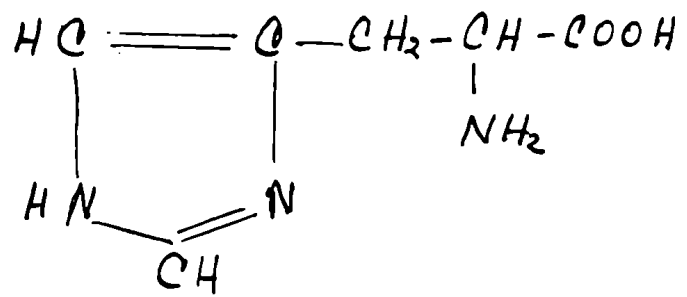
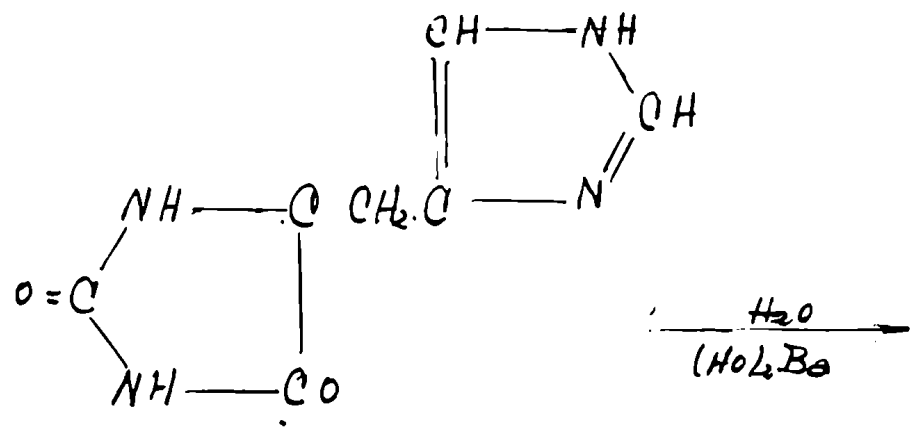


Aparentemente se trataría del caso en que el racémico y uno de sus componentes el isómero-1- en la preparación de Shchukina tienen prácticamente el mismo punto de fusión.-

El mismo autor señala que la hidrólisis con hidróxido de bario conduce a la formación de la 1-histidina si dura 1-2 horas o di-histidina si dura 5 horas.-

Nosotros hidrolizamos directamente con hidróxido de bario la solución conteniendo el producto reducido; y hemos empleado como tiempo de calentamiento 12 horas para asegurar la hidrólisis y la obtención de la histidina racémica que fué aislada y caracterizada como picrato de punto de fusión 105°.-





PARTI EXPERIMENTAL

PREPARACION DEL

ACETIL-1-(3)-IMIDAZOL-4-(5)-ACETILACETIL-1-HIDANTOINA

Su preparación ya ha sido descripta en la primera parte de este trabajo.-

PREPARACION DEL

IMIDAZOL-4-(5)-ACETILHIDANTOINA

0,7 gramos del producto anterior se suspendieron en 7 mililitros de agua y se tratan con tres porciones iguales (7 gramos en total) de amalgama de sodio, de diez en diez minutos; el compuesto se solubiliza y la solución se decolora.- A los treinta minutos la reducción puede considerarse terminada.- Se lleva a pH 5 con ácido clorhídrico sin que se produzca precipitación.- Fue entonces secado a vacío.- El residuo se extrae con alcohol absoluto eliminado lo insoluble; el alcohol se evaporó y como el residuo no cristalizara bien de agua, fue disuelto en ella y añadida la cantidad calculada de ácido pícrico.-

Se obtiene un picrato cristalino amarillo obscuro que recristalizado de una solución acuosa saturada de ácido pícrico se funde a 210°-212°.-

ANALISIS: 3,517 mgr. de substancia dieron 0,717 cc. de N
.....
(19°-761 mm)

Calculado para: $C_7H_9O_2N_4$23,96%

Encontrado: $C_7H_9O_2N_4$23,41%

PREPARACION DE LA DL-HISTIDINA:
.....

6,6 gramos del producto de condensación se suspendieron en 66 mililitros de agua y se trataron con 66 gramos de amalgama de sodio dividida en tres porciones añadidas cada diez minutos y añadiéndose 10 gramos más a la media hora.- El líquido se decolora a medida que progresa la reducción y terminada ésta, se separa el mercurio y restos de amalgama y se añade a la solución acuosa 60 gramos de hidróxido de bario y 27 mililitros de agua calentando a ebullición 12 horas.- Terminado el calentamiento el bario se elimina con ácido sulfúrico diluido.- El filtrado se lleva a pH 4,4 a 4,6 con ácido Clorhídrico, se diluye a mil quinientos mililitros y se añade una solución caliente de 40 gramos de cloruro mercurico en 134 mililitros de alcohol al 95%, agitando fuertemente.- Se añade luego carbonato de sodio hasta pH 7. a 7,5.- Se formó un precipitado marron claro que a las 24 horas fué centrifugado y lavado tres veces con agua.-

Se suspendió entonces en 312 mililitros de agua y se hizo pasar ácido sulfhídrico hasta precipitación total del mercurio.- Se filtró y eliminó el sulfuro de mercurio precipitado.- El líquido se concentró aproximadamente de 60 a 65 mililitros; se decoloró la solución mediante carbón animal y calentamiento; se continuó concentrando hasta 15 mililitros, se neutralizó con carbonato de sodio, se llevó a 130 mililitros y se añadió en caliente 10,4 gramos de ácido pícrico.- Por enfriamiento cristaliza el picrato de histidina con punto de fusión 105°.-

Pyman indica que funde a 103° secado al aire.-

Rendimiento: 10 gramos.-

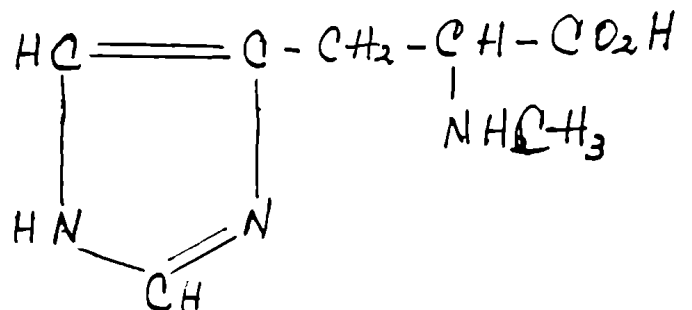
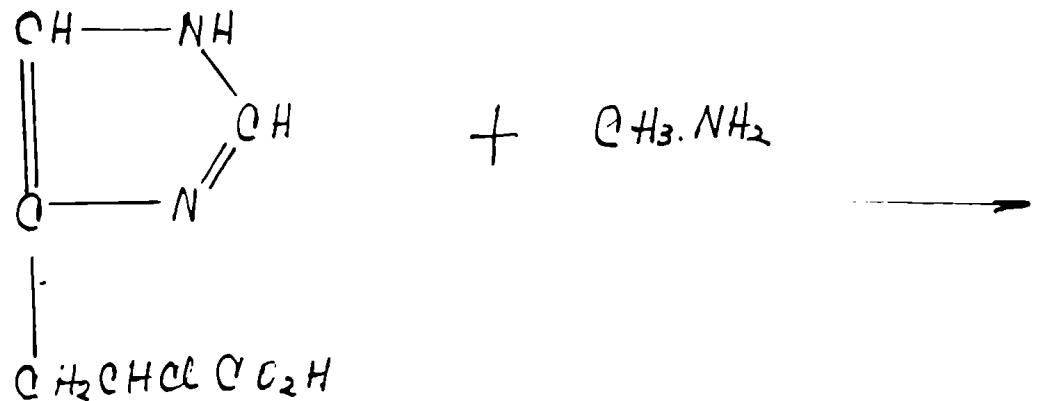
*****0000*****

di-N-Metil-HISTIDINA

La di-N-metil-histidina fue sintetizada por primera vez por Fargher y Fyman (1921), quienes la obtuvieron por acción de la metilamina sobre el ácido α -cloroimidazopropiónico.

El aminoácido fue aislado como picrato, con punto de fusión 132°.-

Síntesis de Fargher y Fyman



Este método fue repetido por Fishem y White (1936) que señalan que la dl-N-metil-histidina da reacción negativa de ninhidrina.-

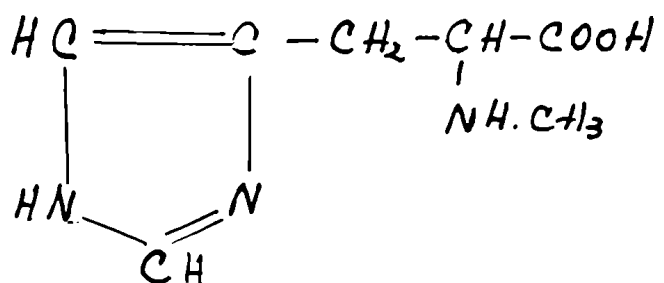
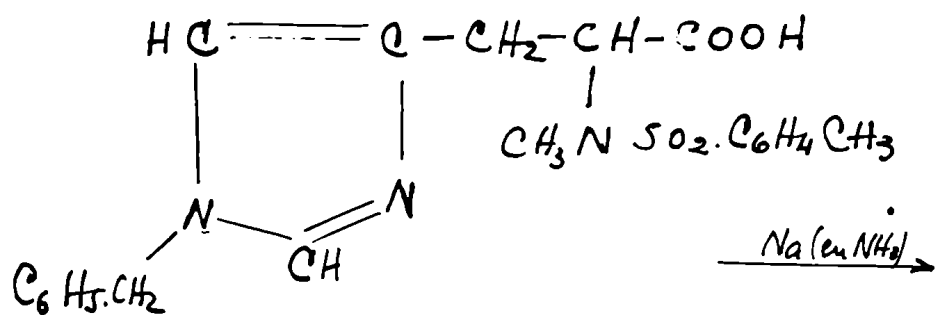
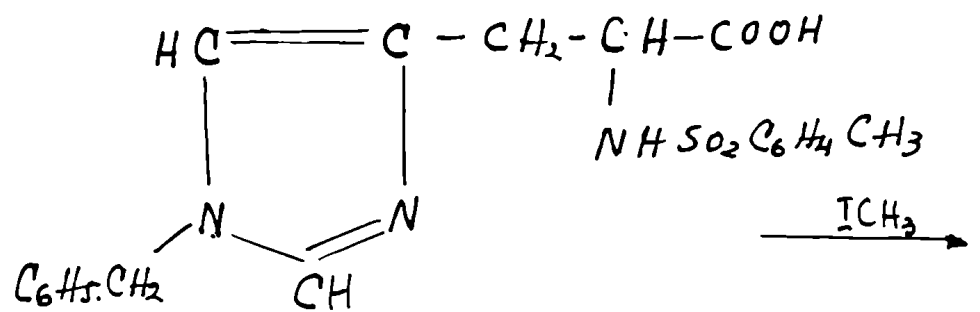
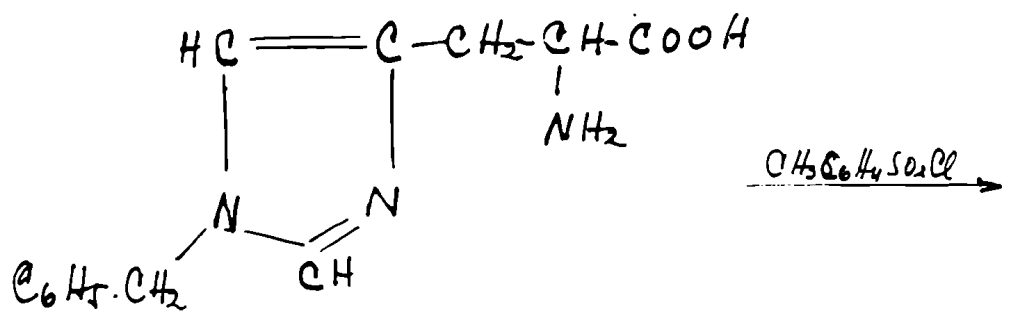
Los dos grupos de autores obtienen el ácido imidazol propiónico a partir de la histidina natural; pero la metil-histidina que obtienen es racémica por producirse fenómenos de inversión tanto en la operación de cloronitrosación de la histidina como en el tratamiento del ácido halogenado con la metilamina.-

Para evitar éste Du Vigneaud y Behrens (1937) buscaron un método de metilar el nitrógeno imínico de la l-histidina sin que se produjera racemización y al mismo tiempo debían evitar que se introdujeran grupos metilos en el ciclo imidazolico.- Para esto prepararon en primer lugar la l-(3)-benzil-l-histidina.-

El grupo amino fue condensado con ácido petoluen sulfónico para asegurar en esta forma la introducción de un sólo metilo en esa posición durante el proceso de metilación.-

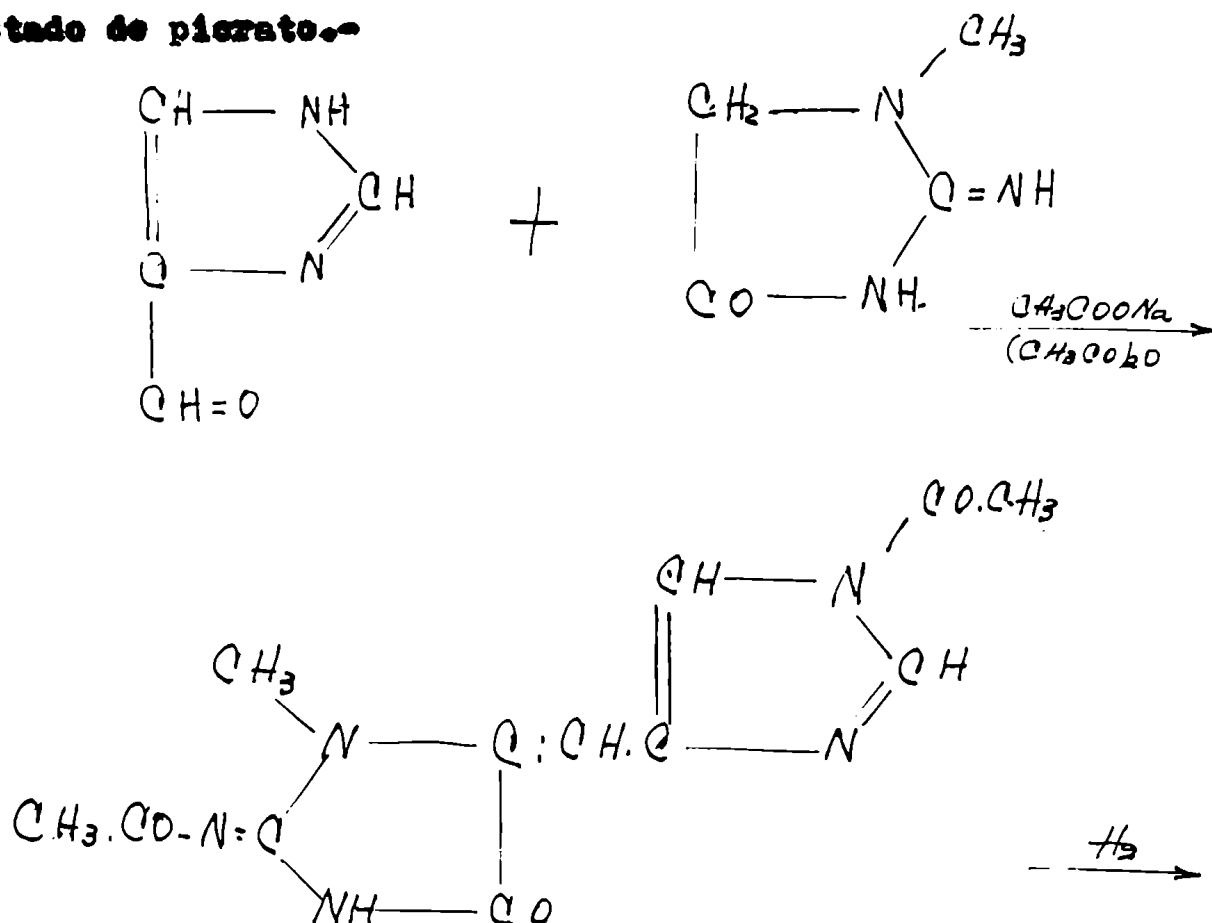
Realizada ésta, la hidrólisis del grupo benzilo y para teluensulfónico dió lugar a la formación de la l-metil-histidina que fue aislada por intermedio del picrato.-

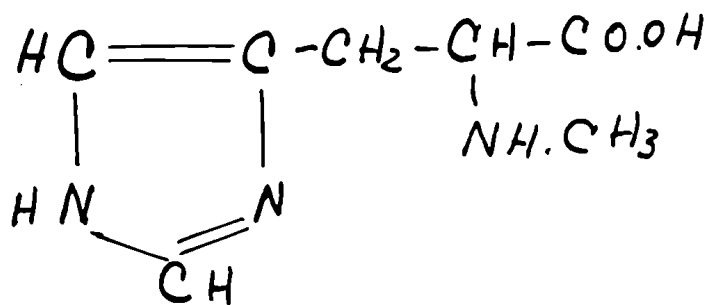
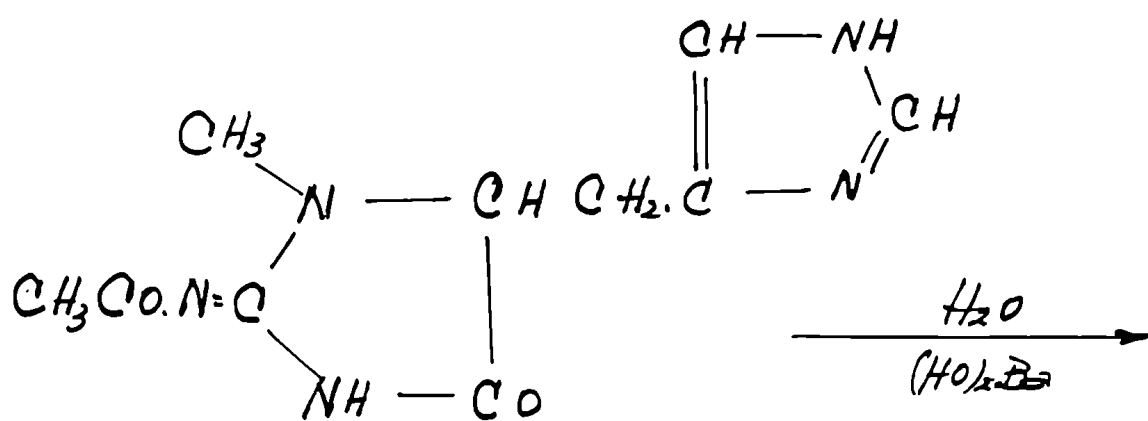
Síntesis de Du Vigneaud y Behrens.-



En nuestro trabajo hemos realizado una nueva preparación de la di-N-metil-histidina por condensación del imidazol-4-(5)-formaldehído con creatinina, método general descrito por Nicolet y Campbell (1928), Deulofeu y Mendivezúa (1935).-

El producto de condensación obtenido: acetil-1-(3)-imidazol-4-(5)-metilenoacetil-1-creatinina, se redujo con amalgama de sodio y condujo al imidazol-4-(5)-metiloreatinina que fue aislado al estado puro únicamente como picrato, pero puede hidrolizarse a di-N-metil-histidina sin purificación previa.- La di-N-metil-histidina obtenida por ésta hidrólisis fue aislada al estado de picrato.-





PORTE EXPERIMENTAL

PREPARACION DEL

ACETIL-1-(3)-IMIDAZOL-4-(5)-METILENACETIL-1-CREATININA

Esta preparacion ya ha sido descripta en la primera parte de este trabajo.-

PREPARACION DEL

IMIDAZOL-4-(5)-METILENACETIL-1-CREATININA

Esta substancia fué aislada solamente como picrato.-

1 gramo del producto anterior fué reducido por 10 gramos de amalgama de sodio con 10 mililitros de agua por el procedimiento corriente.-

Terminada la reduccion, que se nota por decoloracion del liquido al cabo de media hora de tratamiento, se neutraliza con hidroxido de sodio y como no da precipitado se añade ácido pícrico que determina la formacion de un aceite que se separa y continuase añadiendo ácido pícrico en caliente; por enfriamiento aparecen cristales amarillos que recristalizados de agua funden entre 207°-210°.-

ANALISIS: 3.36 mgr. de substancia dieron 0.690 cc. de N
(19°-760 mm).-

Calculado para: $C_9H_9ON_5(CO_2OH)$ 24,13%

Encontrado: $C_9H_9ON_5(CO_2OH)$ 23,53%

PREPARACION DE LA
DL-N-METIL-HISTIDINA

1 gramo de acetyl-1-(3)-imidazol-4-(5)-metilenoacetyl-1-creatinina se reduce exactamente como en el caso anterior y terminada la reducción se añadió 4 mililitros de agua y 9 gramos de hidróxido de bario cristalizado, hirviendo 12 horas a reflujo; terminada la ebullición se separa el bario con ácido sulfúrico diluido; y el líquido se separa.- El precipitado se sigue lavando con agua hasta reacción negativa de Fehling.

Se concentran los líquidos hasta 50 mililitros y se añade 2,25 gramos de ácido pícrico en caliente.- Se deja enfriar y cristaliza el picrato que funde a 128° y recristalizado su punto de fusión llega a 132°.-

Fargher y Pymon (1921) lo obtuvieron con punto de fusión 132°.-

o Mezclado con ácido pícrico de punto de fusión 122°, funde a 116°.-

En el curso de este trabajo se han preparado las siguientes sustancias no descritas en la literatura:

Acetil-1-(3)-imidazol-4-(5)-metilenoacetil-1-hidantoína.

Imidazol-4-(5)-metileno-hidantoína.

Acetil-1-(3)-imidazol-4-(5)-metilenoacetil-1-tiohidantoína.

Imidazol-4-(5)-metilantiohidantoína.

Acetil-1-(3)-imidazol-4-(5)-metilenoacetil-1-creatinina.

Acido α acetilamino β imidazolacrílico.

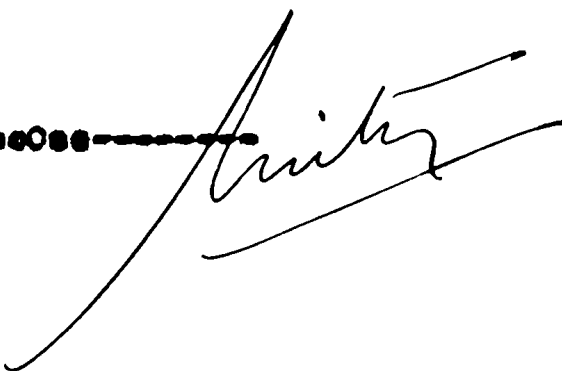
Clerhidrato del imidazol-4-(5)-metileno 2-4 dinitrofenilhidrazona.

Picrato del imidazol-4-(5)-metileno-hidantoína.

Picrato del imidazol-4-(5)-metilenoacetil-1-creatinina.

RESUMEN Y CONCLUSIONES

- I.- Se ha estudiado la reacción del imidazol-4-(5)-formaldehído con una serie de compuestos conteniendo un grupo metilénico activo; habiéndose podido condensar con: hidantoína, tiohidantoína, acetiltiohidantoína, creatinina, ácido acético.-
- II.- Se ha preparado el clorhidrate del imidazol-4-(5)-metileno 2-4 dinitrofenilhidrazona.-
- III.- Partiendo del acetil-1-(3)-imidazol-4-(5)-metilenoacetil-1-hidantoína, por reducción e hidrólisis se ha obtenido la di-histidina.-
- IV.- Partiendo del acetil-1-(3)-imidazol-4-(5)-metilenoacetil-1-creatinina, por reducción e hidrólisis se ha obtenido la di-N-metil-histidina.-

-----oOo-----


BIBLIOGRAFIA

- Alberston y Archer (1945) "Journ. of the Am. Chem. Soc." , 67,
Alberston y Tullar (1945) "Journ. of the Am. Chem. Soc." , 67,
Boyd y Robson (1935) "Bioch. Journ." , 29, 543
Barger y Dakin (1916) "Bioch. Journ." , 10, 376
Darby, Lewis y Totter (1942) "Journ. of the Am. Chem. Soc." ,
64, 463
Darby y Totter (1944) "Organic Syntheses" , 24, 64
Deulofeu y Mendivezua (1935) "Ber." , 68, 783
De Vignaud y Behrens (1937) "Journ. Biol. Chem." , 112, 27
Döbner y Kuntze (1888) "Ann." , 249, 129
Fargher y Fyman (1921) "Journ. Chem. Soc." , 119, 736
Fishan y White (1936) "Journ. Biol. Chem." , 113, 175
Girard y Parrod (1930) "Comp. rend." , 195, 1110
Knoop y Windaus (1906) "Beitr. Chem. Physiol. Pathol." , 8, 4
según V. y S. (1931) "Chem. Rev." , 9, 169
Nicolet y Campbell (1928) "Journ. of the Am. Chem. Soc." , 50,
Pauly (1904) "Zeit. Physiol. Chem." , 42, 508, según V. y S.
(1931) "Chem. Rev." , 9, 169
Parrod y Garreau (1932) "Comp. rend." , 195, 1110
Parrod (1932) "Bull. Soc. Chim. France" , 51, 1424
Parrod (1933) "Bull. Soc. Chim. France" , 53, 196
Fyman (1911) "Journ. Chem. Soc." , 99, 673

Pyman (1911) "Journ. Chem. Soc." , 99,1389
 Pyman (1912) "Journ. Chem. Soc." , 101,530
 Pyman y Fargher (1916) "Journ. Chem. Soc." , 109,186
 Pyman y Hubball (1928) "Journ. Chem. Soc." , 21
 Shchukina (1940) "J. Gen. Chem." U.S.S.R. , 10,1108 según
 C.A. 1941 , 2,4022
 Vickery y Schmidt (1931) "Chem. Rev." , 2,169
 Weidenhager y Herrmann (1935) "Ber." , 68,1953
 Weidenhager, Herrmann y Wegner (1937) "Ber." , 70,570
 Wheeler y Hoffman (1911) "Am. Chem. Journ." , 45,368

-----0000-----