

Tesis de Posgrado

Investigaciones en la serie de la cloromicetina y en la serie de los compuestos orgánicos del fluor

Schwarcz, José

1955

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:

Schwarcz, José. (1955). Investigaciones en la serie de la cloromicetina y en la serie de los compuestos orgánicos del fluor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0846_Schwarcz.pdf

Cita tipo Chicago:

Schwarcz, José. "Investigaciones en la serie de la cloromicetina y en la serie de los compuestos orgánicos del fluor". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1955. http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0846_Schwarcz.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



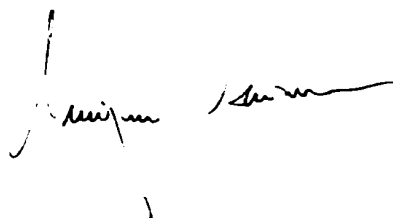
UBA

Universidad de Buenos Aires

Ministerio de Educación

Universidad Nacional de Buenos Aires

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

A handwritten signature in dark ink, appearing to read 'José Schwarz', is written over a faint, dotted grid background.

INVESTIGACIONES EN LA SERIE DE LA CLOROMETANO Y EN
LA SERIE DE LOS COMPUESTOS ORGÁNICOS DEL FLUOR

J O S É S C H W A R C Z

TESIS: 846

T E S I S

para optar al título de Doctor en Química

Año 1955

A mis padres

Mi más profundo agradecimiento al Doctor Ernest D. Bergmann, Profesor de Química Orgánica de la Universidad Hebrea de Jerusalén (Israel), por las innumerables atenciones de las cuales fui objeto y por la inigualable paciencia y comprensión con que me ayudó a efectuar la presente tesis realizada bajo su dirección.

Dejo constancia de mi agradecimiento:

- al padrino de tesis, Doctor Jorge Mendive, que con su cordial apoyo y confianza me alentó durante el curso de mis investigaciones.
- a los instituidores de la Beca Ketty Mirelman, cuyo aporte moral y financiero hicieron posible la realización de este trabajo.
- al Departamento Científico del Ministerio de Defensa de Israel, que me facilitó laboratorio, biblioteca, aparatos y drogas.
- al Doctor S. Pinchas (Instituto Científico Weizmann, Rehovot) por los espectros de absorción en el infrarrojo y al Doctor Ch. Eger (Departamento Científico, Tel Aviv) y Señora Hanna Weiler (Jerusalén) por los espectros de absorción en el ultravioleta.
- al Doctor S. Davidevitz (Instituto Biológico de Israel) por los ensayos biológicos.
- al Doctor Hirschfeld (Instituto Científico Weizmann, Rehovot) por los diagramas de rayos X.
- al Doctor W. Bodenheimer y Señora M. Goldstein (Universidad Hebrea de Jerusalén, Israel) por los análisis de carbono, hidrógeno, nitrógeno y fluor.

I N D I C E

Parte Teórica:

- Capítulo 1 La cloromicetina y compuestos naturales relacionados con ella
- 2 Los análogos estructurales de la cloromicetina
- 3 Estereoquímica y posibles modos de acción de la cloromicetina
- 4 La fenilserina y compuestos relacionados con ella
- 5 Influencia del fluor en las propiedades biológicas de las sustancias orgánicas

Parte experimental:

- 6 Las β -6-nitro-3-fluoro fenilserinas
- 7 Nuevos derivados de las fenilserinas
- 8 La condensación del ácido fluoracético con los aldehidos aromáticos

Parte Preparativa:

Referencias Bibliográficas:

Resumen y Conclusiones:

| <u>Figura</u> | <u>Página</u> |
|---------------|---------------|
| 1 | 29 |
| 2 | 30 |
| 3 | 30 |
| 4 | 63 |
| 5 | 63 |
| 6 | 64 |
| 7 | 65 |
| 8 | 66 |
| 9 | 66 |
| 10 | 67 |
| 11 | 68 |
| 12 | 72 |
| 13 | 81 |
| 14 | 81 |
| 15 | 84 |
| 16 | 84 |
| 17 | 85 |
| 18 | 85 |
| 19 | 87 |
| 20 | 87 |
| 21 | 88 |
| 22 | 88 |
| 23 | 88 |
| 24 | 89 |
| 25 | 91 |
| 26 | 92 |
| 27 | 93 |
| 28 | 93 |
| 29 | 97 |
| 30 | 97 |
| 31 | 97 |

| <u>Tabla</u> | <u>Página</u> |
|--------------|---------------|
| 1 | 11 |
| 2 | 20 |
| 3 | 41 |
| 4 | 49 |
| 5 | 51 |
| 6 | 52 |

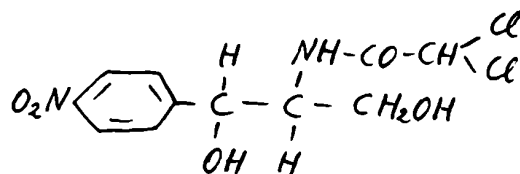
PARTE TEORICA

Capítulo 1

LA CLOROMICETINA Y COMPUESTOS RELACIONADOS CON ELLA

En el año 1947 una sustancia con propiedades antibióticas fué descubierta y aislada del Streptomyces venezuelae por Ehrlich y sus colaboradores (1) en los Laboratorios de Investigaciones de Parke, Davis & Co. (2) (3) y en los de la Universidad de Illinois (4) (5). Para esta droga antibiótica fué adaptada la marca comercial registrada "CLOROMICETINA" y el nombre genérico "CLOROAMFENICOL".

Su fórmula (I) fué determinada por Rebstock *et al.* (6) (7) (8):



d(-) -treo -1- p - nitrofenil - 2 -
dicloroacetamido - 1,3 - propanediol

La fórmula de la cloromicetina presenta dos características poco frecuentes, la presencia de un grupo nitro aromático y de un radical dicloroacetilo. Antes de entrar en la discusión de la química de la cloromicetina es conveniente decir unas palabras sobre los productos naturales que contienen grupos nitro y halógenos.

Hasta la fecha de la determinación de la fórmula de la cloromicetina, 1949, no se han encontrado productos naturales que contengan grupos nitro. En 1951, Carter (9) encontró que la karkina, un glucósido que se halla en los granos de la karkina (Corynocarpus laevigata), contiene ácido β -nitro propiónico. El ácido hiptagénico, presente como glucósido en la corteza del árbol Hiptage mandoblata fué también identificado como ácido β -nitro propiónico. El ácido hiptagénico fué también aislado (11) de una cepa de Aspergillus flavus. Recientemente, investigadores

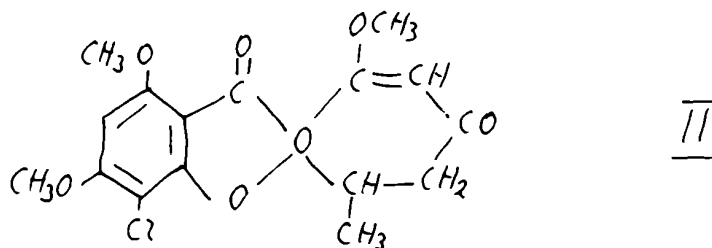
5

japoneses han informado (12) que en cultivos de Streptomyces thiolutens han obtenido un compuesto muy tóxico que contiene un grupo nitro. Su estructura parcial es: $O_2N \text{---} \text{C}_6\text{H}_4 \text{---} \text{C} \begin{matrix} \text{---} \text{R}'_1 \\ \text{---} \text{R}'_2 \\ \text{---} \text{R}'_3 \end{matrix}$
 (Los radicales R'_1, R'_2 y R'_3 , son desconocidos hasta la fecha).

Se conocen varios ejemplos de productos naturales que contienen halógenos. La función y biogénesis de estos compuestos en células vivas es, quizás, uno de los problemas más fascinantes.

Marais, en un trabajo publicado en 1944, informó (13) que ha conseguido aislar monofluoroacetato de potasio de una planta sudafricana Dichapetalum cynosu. Esta planta, conocida en la zona con el nombre de "Gifblaar", es un veneno para el ganado. La presencia del ácido fluoroacético en esta planta es el primer ejemplo de un compuesto orgánico de fluor en la naturaleza. Estudios posteriores demostraron que este ácido es un metabolito interesante (vease página).

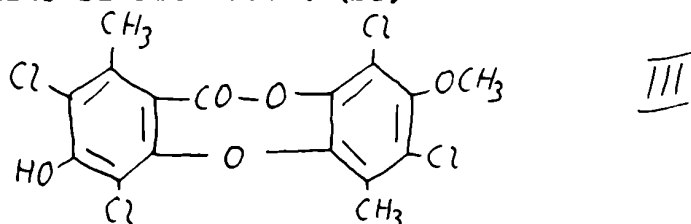
Entre los productos naturales que contienen cloro tenemos la griseofulvina, (11), que fué aislada en 1939 del micelio de Penicillium griseofulvum Dierckx, (14). En el año 1952 Grove y sus colaboradores demostraron que la fórmula de la griseofulvina es:



7-cloro-4,6-dimetoxicumarán-3-ona-2-espiro-1'-(2'-metoxi-6'-metilciclohex-2'-en-4'-ona)

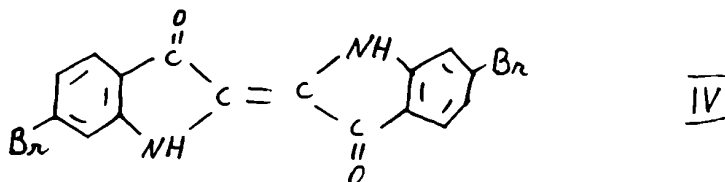
Otros productos naturales clorados son la nidulina y la nornidulina ("ustina") aislados de una cepa de Aspergillus nidulans en 1946, (15). Se supone que estos compuestos son depsidonas cloradas (17). En 1934, Nolan (18) aisló del líquen Buellia canescens Dicks) una depsidona poco frecuente que contiene cloro y la llamó diploicina (III).

En 1948 determinó su estructura: (19)



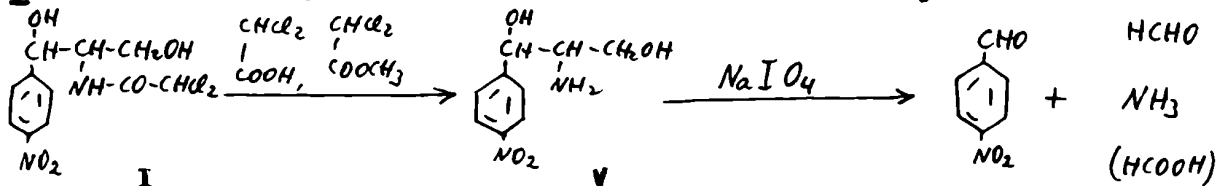
La diploicina fué aislada conjuntamente con varios otros compuestos clorados (20)(21) como por ejemplo la clorotranorina extraída de la Lecanora sordida (22) y de la Parmelia latissima Rée (23) y la gangaleoidina extraída de la Lecanora gangaleoides (24).

Como compuesto natural que contiene bromo tenemos la púrpura de los antiguos (púrpura de Tiro) que fué obtenida en la antigüedad a partir del caracol de púrpura (Murex Brandaris). El colorante, llamado actualmente Indigo 5B fué aislado por Friedländer (25) (1.4g de sustancia a partir de 22000 moluscos) e identificado como 6,6'-dibromoindigo (IV):



Yodo fué hallado en la tiroxina (aislada de hidrolizados de tiroglobulina por Kendal (26) en 1915), en la 3-monoyodo-tirosina (extraída de la tiroglobulina en 1947, (27)), en la 3,5-diyodo-tirosina (ácido yodogorgórico, aislada del esqueleto córneo de ciertos corales y esponjas, de algas (28) y de la tiroglobulina (29)) y en la 3,5,3'-triyodotironina (aislada de la tiroglobulina en 1952, (292)).

La estructura de la cloromicetina (I) fué determinada por el estudio de sus productos de degradación y con la ayuda de los espectro de absorción en el ultravioleta y fué confirmada por síntesis. Hidrólisis alcalina o ácida de I produce la base V. Esta base es una amina primaria y puede ser degradada por medio del periodato de sodio en aldehído p-nitro benzoico, aldehído fórmico, ácido fórmico y amoníaco:



La acetilación de I con anhídrido acético en piridina demostró la presencia de dos grupos oxhidrilo y del hecho que el cloramfenicol no fué afectado por el ácido peryódico en las condiciones ordinarias que se emplean para la determinación de grupos oxhidrilo vecinos, se dedujo que los dos oxhidrilo no están en posición vecina uno al otro. Estas reacciones colocan al grupo amino en la posición 2 de la cadena de pro pilo.

Estas son las principales etapas de los estudios de degra-

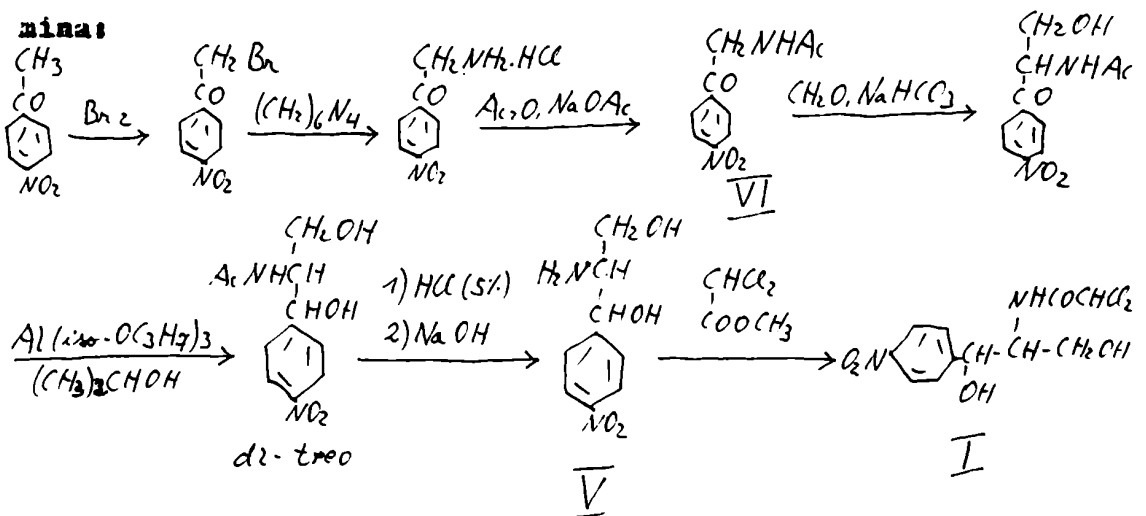
dación que demuestran que la cloromicetina tiene la estructura citada arriba (I).

La designación L(-)-treo fué motivada en el paralelismo existente entre las propiedades ópticas de D(+)-nor-pseudo-efedrina (y las de sus derivados) (6). La correlación directa de la forma dl del cloramfenicol con la dl-nor-pseudo-efedrina por métodos químicos nos da el mismo grado de seguridad que el cloramfenicol existe en la forma treo que el que tenemos para los derivados de la efedrina. La estereoquímica de la cloromicetina y sustancias relacionadas con ella será discutida en el capítulo 3.

Como resultado de la estructura relativamente sencilla de la cloromicetina, la determinación de la misma fué prontamente seguida por su síntesis (7) (8) (131). Desde entonces han aparecido varios nuevos métodos de síntesis y los existentes fueron perfeccionados. La cloromicetina resultó ser la primera droga antibiótica obtenible en escala comercial también por síntesis.

Los métodos más importantes de síntesis de la cloromicetina pueden ser agrupados en dos grupos principales: a) métodos que involucran la sustancia intermediaria p-nitro acetofenona y b) métodos en que la sustancia intermediaria importante es la β -fenilserina o sus derivados.

Como ejemplo del primer método tenemos la síntesis de Long y Frouman (131) que consiste en la introducción del grupo amino en la posición w de la p-nitro acetofenona por medio de la preparación del derivado bromado y de la sal de hexametileno tetra-

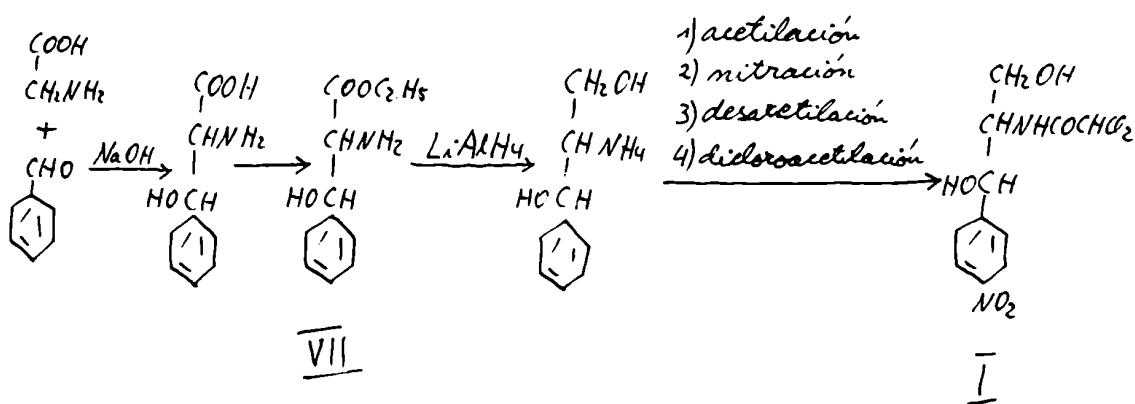


La condensación aldólica de la p-nitro-w-amino acetofenona (VI) y la reducción del grupo carbonilo conducen al esqueleto de la cloromicetina. La resolución de los racematos y dicloroacetila-

ción completan el proceso.

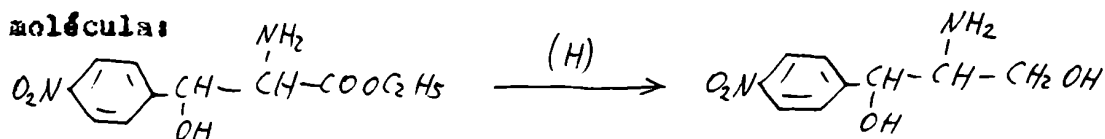
Relación estrecha con el método citado guardan los métodos de Wilkinson et al. (289) y los de los investigadores japoneses (256) (130). La síntesis de Controulis, Webster y Criks (7) se basa en la condensación alcalina del aldehído benzóico y del β -nitro etanol. La síntesis de Funke y Hornman (132) (133) tiene como materia prima al 1-fenil-2-bromo-1,3-propanediol. Otras variaciones conducen al isómero eritro de la cloromicetina (30) (134) (135) (136) (161) (166) (168).

Un segundo e importante grupo de síntesis forman los métodos que se basan en la condensación de dos aldehídos aromáticos con la glicina. Esta reacción fué descubierta hace 50 años por Erlennayer (137) (138) y fué aplicada a la síntesis de la cloromicetina por Carrara y sus colaboradores (139). Alberti et al (140). Vogler (145) y Bendas (146):



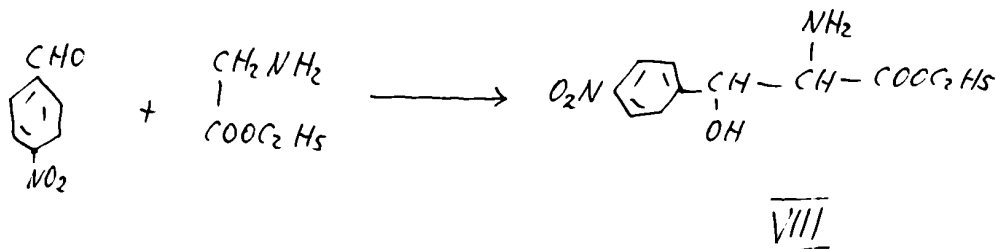
La condensación se lleva a cabo en presencia de álcali. El producto resultante (VII) se reduce con hidruro de litio y aluminio, después por nitración y dicloroacetilación se llega a la cloromicetina (I).

Se han hecho mucho estudios para determinar la extensión de esta reacción importante (véase capítulos 4 y 7). El perfeccionamiento más importante de este proceso consiste en la aplicación de métodos de reducción selectivos, recientemente descubiertos a la transformación del grupo carboxilo a grupo oxhidrilo, sin que la reducción afecte al grupo nitro presente en la molécula:



Métodos de reducción selectivos de este tipo fueron desarrollados por Alphacoff-Felkin-et al. (141) y Huebaer et al. (83) quienes usaron hidruro de litio y aluminio y recientemente por Bergmann et al. (143) quienes usaron borohidruro de sodio y cloruro de litio en solvente de tetrahidrofurano (144).

La posibilidad de poder reducir el éster a alcohol sin afectar al grupo nitro presente en la molécula permite llevar a cabo directamente la condensación con el aldehído para-nitro-benzóico. Se evita así la necesidad de tener que efectuar la nitración del producto de condensación VII.



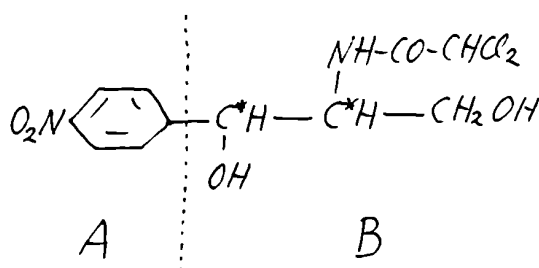
Fueron desarrollados métodos de condensación entre el aldehído para-nitro-benzóico y los ésteres de la glicina que conducen al isómero trans de la fenilserina resultante (VIII) y serán discutidos más adelante (capítulo 4).

Capítulo 2ANÁLOGOS ESTRUCTURALES DE LA
CLOROMICETINA

Después de la determinación de la estructura química de la cloromicetina la atención de los investigadores fué dirigida hacia la determinación de los factores que causan su actividad biológica. La estructura relativamente simple de la cloromicetina y la facilidad con la cual es posible sintetizarla hacen que esta sustancia antibiótica sea la primera en la que la relación entre estructura química y acción biológica pueda ser conscientemente explorada. En consecuencia, gran número de isómeros y análogos de la cloromicetina fueron sintetizados y sus actividades biológicas fueron determinadas.

El resultado más interesante de estas investigaciones es que la introducción o remplazamiento de varios grupos en la molécula de la cloromicetina (principalmente en el anillo aromático) no causa siempre la pérdida de su actividad biológica pero, la pérdida de la configuración estereoquímica tracé de la molécula va siempre acompañada por una gran disminución o desaparición total de su actividad biológica.

Podemos considerar dos partes en la molécula de la cloromicetina: A) la parte aromática (nitrobenzénica) y B) la cadena lateral (dichloroacetamido propanediol), esta segunda parte es la que contiene a los carbonos asimétricos C_1 y C_2 .



Los análogos de la cloromicetina que difieren de ella solamente en la parte A de la molécula se hallan tabulados en la TABLA I.

Observando la TABLA I se ve que es posible efectuar cambios importantes, si bien limitados, en la estructura, con retención de la actividad biológica. El primer hecho significativo es que el átomo o grupo sustituyente debe estar en posición para en el anillo benzénico. Así vemos que los análogos orto-nitro y meta-nitro (I y II) de la cloromicetina no poseen actividad biológica (60

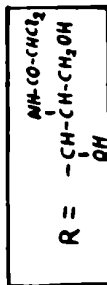




















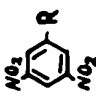


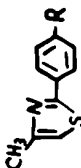



TABLA 1

| | <u>Configuración</u> | <u>Punto de fusión</u> | <u>Bibliografía</u> |
|------|---|--|-------------------------------|
| I | dl-treo  | 125-126 | 31 |
| II | dl-treo  | 135-136; 153; 151.5-133.5; 134 | 31 34 51 35 |
| III | (+)-treo  | 131-132; 82-84 | 37 34 |
| IV | (+)-treo l-treo d-treo  | 111; 118-120; 118-119; 120; 120; 120 93 93 | 33 34 35 36 39 52 39 39 |
| V | (+)-treo  | 118; 134-135; | 33 34 42 |
| VI | (+)-treo l-treo d-treo  | 103-104; 121-122; 123; 125-126 104 104 | 37 34 39 53 39 39 |
| VII | dl-treo  | 106 | 38 |
| VIII |  | 91 | 38 |
| IX | l-treo d-treo  | 191 191 | 39 39 |
| IXa | dl-treo  | 109-110 | 122 |

| | | | | |
|--------------|---|-----------------------------|--------------------------------------|-----------------------|
| I |  | dl-treo l-treo d-treo |; 126-128; 126-127 136 136 | 42 49 122 39 39 |
| II |  | dl-treo l-treo d-treo | 122-124 136 136 | 123 39 39 |
| III |  | dl-treo | 91; 106-108; | 38 40 41 |
| XIII |  | dl-treo | 134-135 | 40 |
| XIV |  | dl-treo | 115-125(d) | 42 |
| XV |  | dl-treo | 132-133; 133 | 43 44 |
| XVI |  | | 153-155 | 45 |
| XVII |  | dl-y l-y | 181-182; | 45 59 59 |
| XVIII |  | dl-y | | 59 |
| XXI |  | | 162-163 | 46 |

| | | | |
|---------------|---|-------------|-----|
| XXI | $\begin{array}{c} \text{CH}_3 - \text{CH} - \text{R} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$ | 140-141 | 46 |
| XXII |  | dl-treo | 50 |
| XXIII | $\text{Cl}_2\text{CHCONH} \langle \text{benzene ring} \rangle \text{R}$ | 174-175 | 54 |
| XXIV | $\text{HCl} \cdot \text{NH}_3 \langle \text{benzene ring} \rangle \text{R}$ | 100 (d) | 54 |
| XXV | $\text{F}_3\text{C} \langle \text{benzene ring} \rangle \text{R}$ | 137.5-138.5 | 56 |
| XXVI |  | dl-y 1-y | 58 |
| XXVII | $\text{O}_2\text{N} \langle \text{benzene ring} \rangle \langle \text{benzene ring} \rangle \text{R}$ | dl-y 1-y | 58 |
| XXVIII |  | dl-treo | 55 |
| XXIX | $\text{H}_2\text{NCO} \langle \text{benzene ring} \rangle \text{R}$ | 129-128 | 122 |
| L |  | 204-205 | 122 |
| LI |  | 234 | 122 |

| | | | |
|---|-----------|---------|-----|
| III $\left[\begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \\ \text{CH}_3 \end{array} \text{N} \text{---} \text{C}_6\text{H}_4 \text{---} \text{R} \right] \text{Cl}^-$ | d(-)-treo | 115-120 | 124 |
| III $\text{O}_2\text{I} \text{---} \text{C}_6\text{H}_4 \text{---} \text{R}$ | dl-treo | 105 (d) | 124 |
| IV $\text{PA}(\text{O})_2^- \left[\text{PA}(\text{O}_2\text{I}) \text{---} \text{C}_6\text{H}_4 \text{---} \text{R} \right]^+$ | dl-treo | 156-157 | 124 |
| V $\text{C}_6\text{H}_5 \text{---} \text{CH}_2 \text{---} \text{C}_6\text{H}_4 \text{---} \text{R}$ | dl-treo | 110 | 124 |
| VIa $\text{HO} \text{---} \text{C}_6\text{H}_3(\text{I})_2 \text{---} \text{R}$ | dl-treo | 165 (d) | 123 |

Este hecho es interesante porque nos hace recordar la semejanza de esta parte de la molécula con la vitamina: $p\text{-H}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{COOH}$ (33).

Otra conclusión importante es la siguiente: no es esencial que el grupo funcional que se halla en la posición para en el anillo benzénico sea un grupo nitro, NO_2 , o sea, reemplazando al grupo nitro por otro substituyente resulta un compuesto que presenta actividad biológica, aunque, generalmente, dicha actividad es más débil que la de la cloromicetina.

Reemplazando al grupo nitro por halógenos se obtiene un número de compuestos cuya actividad biológica muestra un decrecimiento en el siguiente orden: $\text{Br} > \text{Cl} > \text{I} > \text{F}$, es decir, el análogo para-flúor de la cloromicetina (III) prácticamente carece de actividad biológica, el análogo para-bromo (V) tiene una actividad aproximadamente cinco veces menor que la cloromicetina contra una variedad de microorganismos que incluyen St. aureus, E. coli y S. paratyphosus y presenta baja toxicidad en animales (37). El análogo para-cloro (IV) presenta una actividad algo menor que el análogo para-bromo pero de la misma naturaleza (37). Tiene una cierta actividad contra Shigella paradysenteriae (*in vitro*) (33) y tiene 1/10 de la actividad de la cloromicetina hacia el Staphylococcus (36). Investigadores checos (35) aseguran que el análogo para-cloro es más activo que la cloromicetina hacia Salmonella paratyphi. El análogo para-yodo (racémico) tiene 1/30 de la actividad de la cloromicetina racémica hacia Staphylococcus aureus y Escherichia coli. Es interesante mencionar acá que la configuración *trans* del análogo para-yodo de la cloromicetina, fué confirmada por Smith (124) por deshalogenación catalítica e identificación de los productos resultantes con sustancias conocidas.

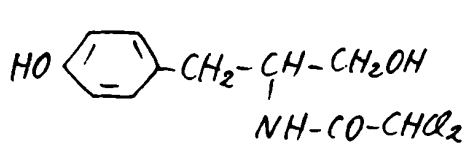
El compuesto que no contiene ningún grupo funcional en el anillo benzénico, (XXVIII), presenta, según Woolley (61), solamente la 1/e0 parte de la actividad de la cloromicetina.

Los análogos p-tolilo VII y p-metoxilo XII tienen una actividad extremadamente baja contra Escherichia coli y Staphylococcus aureus.

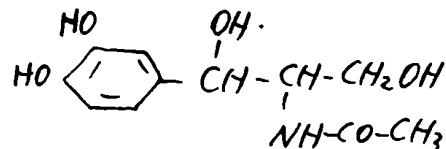
El análogo 3,4-diclorofenilo VIII presenta una marcada actividad contra Shigella paradysenteriae y Staphylococcus aureus.

El análogo p-hidroxilo XI y también el m-dicloroacetil-1-tirosinol XXIX son inactivos (62) (63). El *dl*-*trans*-3,4-dihidroxi-2-acetato-1,3-propanediol XXX es inefectivo contra S. typhosa (4.). Del análogo 3,5-diiodo XIIa no se encuentran en la literatura.

tura sobre ensayos biológicos.



XXIX

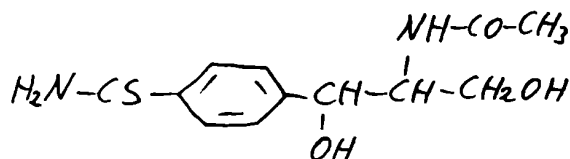


XXX

Según Rebstock y Pfeifer (40) el análogo p-metoxilo de la cloromicetina XII mostró una actividad biológica significativa cuando fué ensayado contra la Shigella sonnei, en cambio el análogo p-fenoxifenilo XIII presentó solamente una actividad débil contra el mismo microorganismo.

La actividad del análogo p-ciano X es solamente la centésima parte de la actividad de la cloromicetina (43) (122). Investigadores japoneses informaron (49) que dicho análogo, X, innibe el crecimiento de la Salmonella typhosa a una dilución de 0.0005.

Los análogos p-etoxicarbonilo, IXa, p-carbamoilo, XLVIII, p-tiocarbamoilo, IL, p-metil-tiazolilo, L, p-(p-nitrofenil)-tiazolilo, LI, presentan una actividad pequeña que no llega a 10 % de la actividad de la cloromicetina (122).

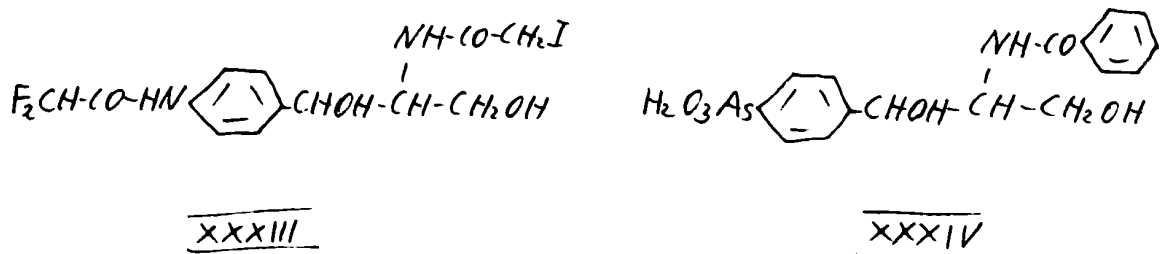
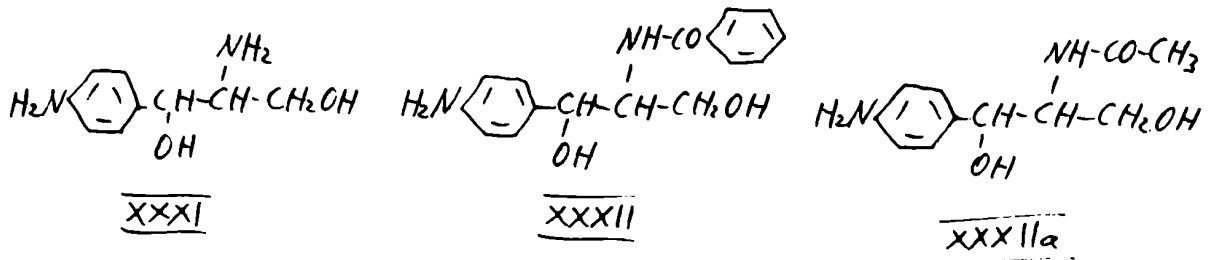


IL

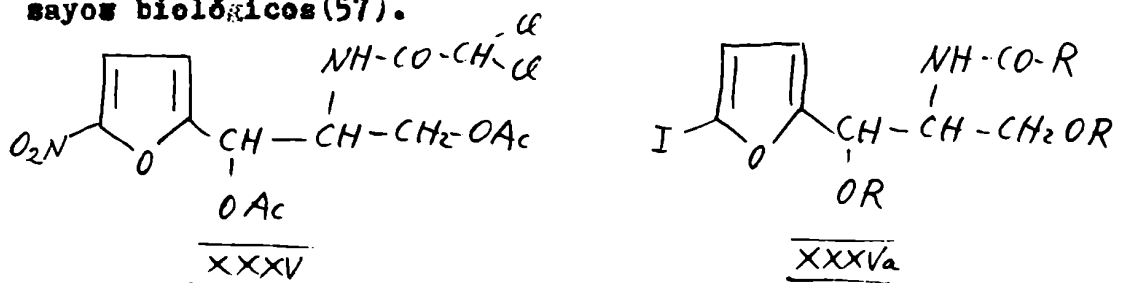
La actividad del análogo piridina, XIV, es solamente de 1-3% de la actividad de la cloromicetina contra Salmonella typhimurium y Ebertella typhi, (42).

Reduciendo al grupo nitro se obtiene el análogo p-dicloroacetamido, XXII, que presenta todavía cierta actividad biológica (64). No se encuentran en la literatura referencias sobre ensayos biológicos de las siguientes substancias: compuesto XXXI (p-amino) (41), sus derivados benzoilamido, XXXII, (39) y acilamido,

XXXIIa (122), compuestos XXXIII (94) y XXXIV, (39)

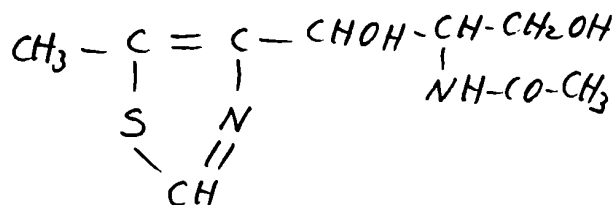


El análogo tiofeno de la cloramfetina fué sintetizado por varios autores (43) (44) (52) (65) pero no publicaron informes sobre ensayos biológicos. En cambio se ha informado (53) que el análogo *p*-nitro tiofeno, XV, de la cloramfetina varios compuestos intermediarios fuer n preparados, como por ejemplo el compuesto XXXV y XXXVa, pero no se publicaron resultados sobre ensayos biológicos (57).



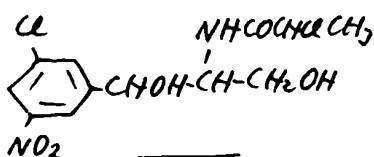
Ashley y Davis (46) reemplazaron al grupo fecilo de la cloramfetina por un anillo reducido (ciclohexilo) XIa o por un grupo alquilo XX. Estos análogos no tienen propiedades bactericidas o virucidas.

Investigadores japoneses (50) prepararon al análogo 3,5-dinitrofenilo XXI, este compuesto no presenta acción efectiva contra Salmonella typhi. Los mismos investigadores prepararon al intermedisrio 4-metil-5-tiazolilo pero no informaron sobre sus propiedades biológicas.

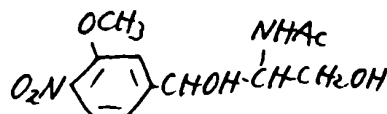


XXXVI

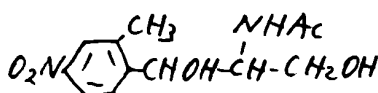
Las sustancias intermediarias en la síntesis de análogos de la cloromicetina, XXXVII, XXXVIII, XXXIX y XL, mencionadas en una patente de la Cía. Parke Davis (68). Tienen cierta semejanza con el análogo 3,5-dinitro de la cloromicetina XXI. No hay datos sobre sus propiedades biológicas.



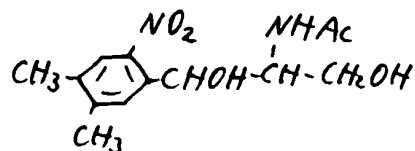
XXXVII



XXXVIII



XXXIX

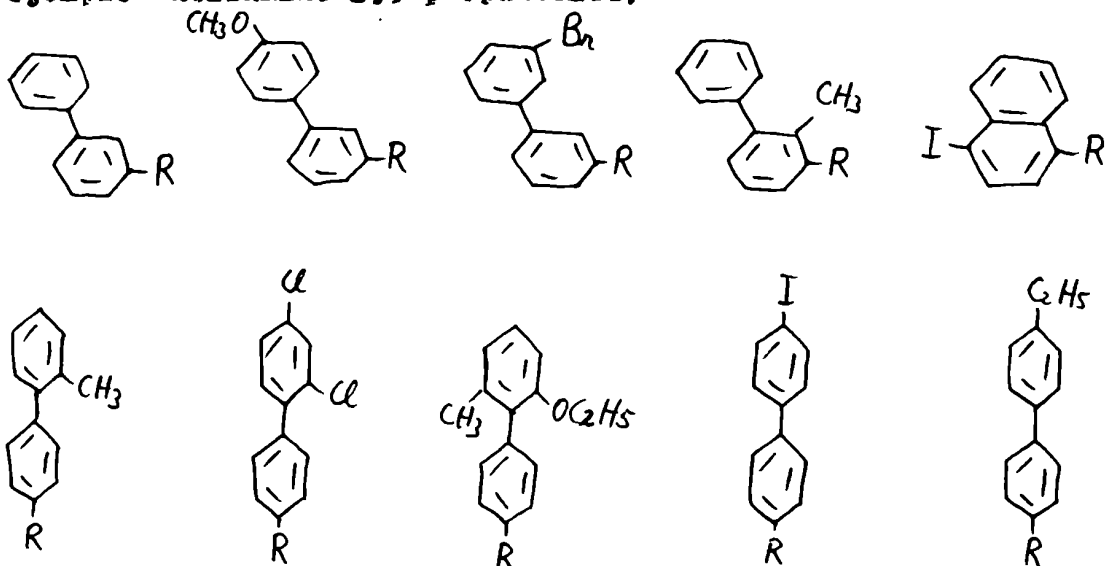


XL

Un análogo interesante, XXIV, que contiene un grupo trifluoro-metilo en lugar del grupo nitro en la posición para del anillo benzénico, fué preparado por Caldwell y Schweiker (56). Ensayos in vivo indican que el compuesto XXIV es activo pero, mg. por mg. es menos efectivo que la sulfanilamida en ratones infectados con Streptococcus pyogenes (5 mg c/u oralmente x2), es efectivo en las mismas dosis en ratones infectados con Klebsiella pneumoniae. Su toxicidad en ratones es baja.

Investigadores de la Cía. Parke Davis en varios patentes reivindican la preparación de compuestos relacionados con la cloromicetina que tienen grupos difenilos XXV, XXVI y naftilos XVI, XVII substituídos en lugar del grupo p-nitrofenilo y afirman que algunos de estos compuestos tienen propiedades antibióticas especialmente útiles contra microorganismos de tipo Rickettsia. La mayoría de los compuestos de este tipo preparados por investigadores americanos (58) (59) (69) (70) (71) e italianos (72) contienen una cadena alifática en la molécula que es algo diferente de la cadena alifática de la cloromicetina. Las siguientes

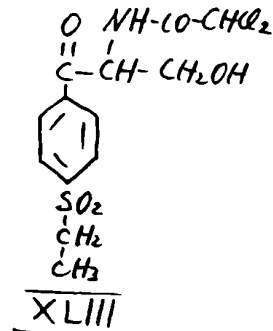
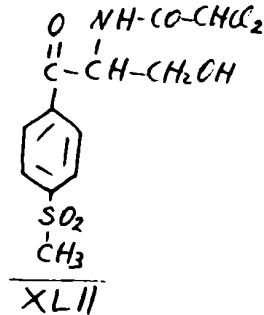
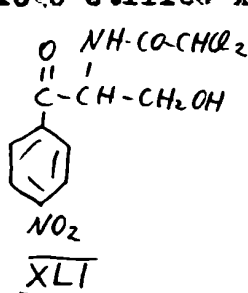
tes sustancias fueron sintetizadas: (R: cadena alifática, por ejemplo: acilamino 1,3-propanediol)



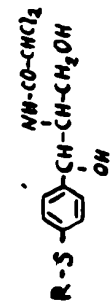


Outler et al. (47) (5) prepararon una serie de análogos de la cloromicetina en los cuales el grupo p-nitrofenilo está reemplazada por grupos alquil-mercaptofenilos o grupos alquil-sulfofenilos. (Véase TABLA 2).

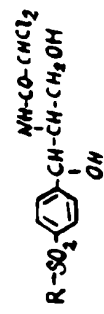
Tanto en la serie del sulfito (Ia, Ic) como en la serie de la sulfona (IIa, IIc) los compuestos S-metilados presenta una fuerte acción antibacterial contra varios organismos patógenos (Staph. aureus 209, Strep. hemolyticus C 203, E. typhi (Hopkins) y Br. abortus). es digno de hacer notar que el alargamiento en la actividad bacteriostática de ambas series (48).

En 1959 Hillegas (40) hizo la interesante observación que un compuesto intermediario en la síntesis de la cloromicetina (XLI, sintetizado por Long y Trotman (66) es un fungicida efectivo contra Candida albicans. Semajante actividad fué hallada por Suter (51) en los análogos sulfonados XLII y XLIII. También en estos dos compuestos (XLII y XLIII) se puede ver que el alargamiento de la cadena alifática al átomo de azufre ocasiona una disminución de la actividad fungicida. el compuesto con radical metilo XLII es de una, a una y media veces menos activo que su análogo etílico XLIII.



T A B L A 2

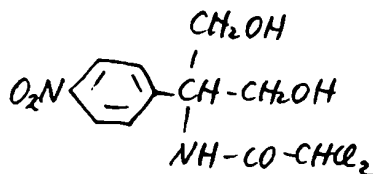
| <u>R</u> | <u>grupo</u> | <u>Punto de fusión</u> |
|----------|--|------------------------|
| Ia | CH ₃ -  | 111.6 - 112.6 |
| Ib | CH ₃ - | 112.0 - 113.0 |
| Ic | CH ₃ - | 101.2 - 102.4 |
| Id | C ₂ H ₅ - | 92.4 - 93.4 |
| Ie | CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ - | 91.8 - 94.8 |
| If | CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ - | 85.5 - 87.0 |
| Ig |  | 90.6 - 97.4 |
| IIa | CH ₃ - | 164.3 - 166.3 |
| IIb | CH ₃ - | 164.3 - 166.3 |
| IIc | CH ₃ - | 179.6 - 181.0 |
| IId | C ₂ H ₅ - | 184.0 - 185.0 |
| IIe | CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ - | 182.9 - 184.5 |
| IIf | CH ₃ -CH ₂ -CH ₂ -CH ₂ - | 131.6 - 132.8 |
| IIg |  | 124.9 - 127.3 |



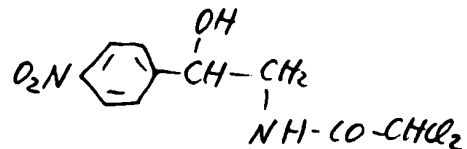
Smith et al. (124) reemplazaron al grupo nitro de la cloromicetina por grupos que orientan fuertemente hacia la posición meta, es decir, por trimetilamonio III y yodóxilo (LIII), esperando que los compuestos resultantes sigan teniendo actividad biológica. También prepararon los análogos dibenzoylyodoso LIV y p-bencilo LV pero todavía no han informado sobre los ensayos biológicos.

Muchos estudios han sido hechos para determinar el papel que desempeña la parte B de la molécula de la cloromicetina (véase pág. 10). Esta parte de la molécula es altamente específica y cambios pequeños en su estructura ocasionan la pérdida de la actividad biológica. Por ejemplo, la sustitución del grupo dicloroacetilo por un grupo acetilo se traduce en una disminución muy grande de la actividad biológica (47).

Un hecho interesante en la bioquímica de la cloromicetina es que el compuesto XLVIII, un isómero de posición muy estrechamente relacionado con la cloromicetina, es completamente inactivo (88), pero la supresión del grupo hidroximetilo terminal en la cloromicetina (compuesto IL) no produce efectos drásticos hacia Staph. aureus y Escherichia coli (37)

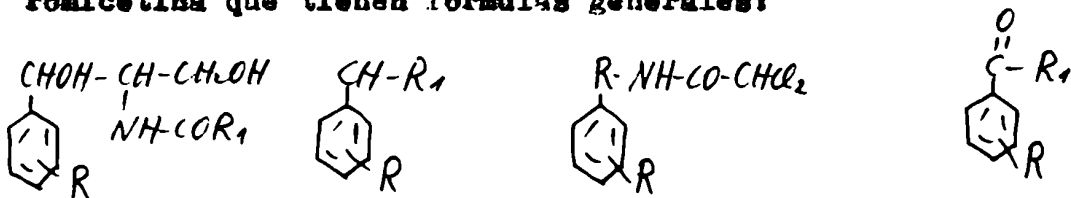


XLVIII



IL

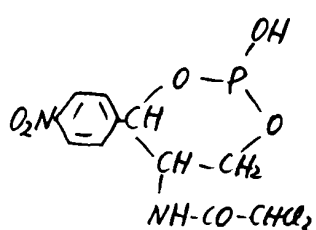
No citaremos en detalle a todos los análogos de la cloromicetina que tienen fórmulas generales:



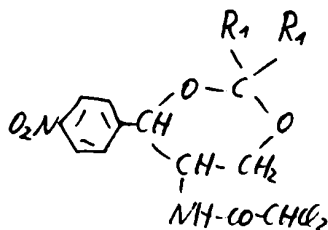
(bibliografía: de (73) a (93) inclusive) solamente mencionaremos la conclusión general que esta parte de la molécula (parte B) es muy específica respecto a su actividad biológica. Una gran mayoría de los cambios que se efectuaron en esta parte de la molécula

cula , incluyendo isómeros de posición (86)(88) y estereoisómeros, ocasionaron la pérdida o gran disminución de la actividad biológica.

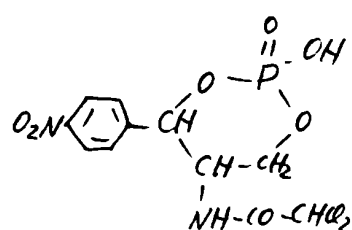
En cambio la esterificación de los dos grupos oxhidrilos no ocasiona la pérdida de la actividad biológica in vivo, de acuerdo con las patentes de la firma Parke, Davis & Co., en dichas patentes también se afirma que los ésteres carecen de sabor(94). Se citan sulfitos, carbonatos (95), ésteres cíclicos del ácido fosforoso (96), XLV, y compuestos del tipo XLVI. Los ésteres cíclicos del ácido fosfórico XLVII son inactivos (97).



XLV

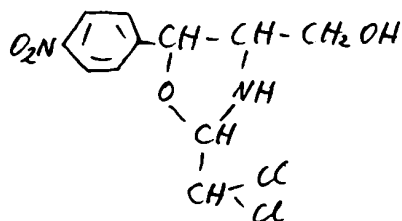


XLVI

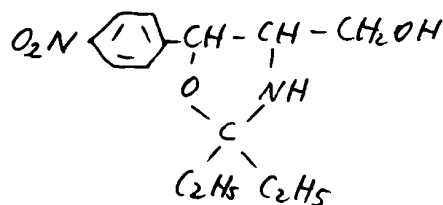


XLVII

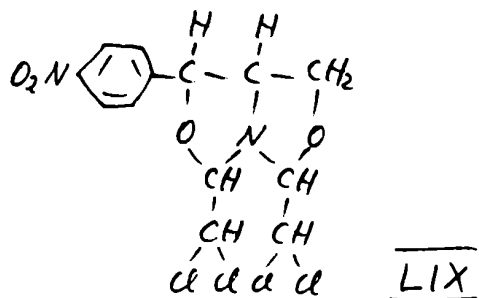
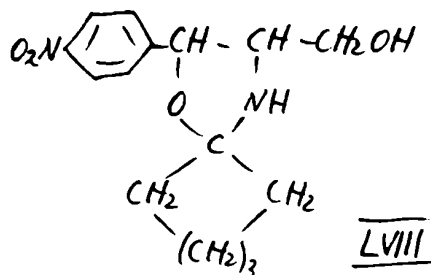
Otros derivados cíclicos interesantes de la cloromicetina son las oxazolidinas. Bergmann y Mesnick (26) (101) en sus estudios sobre la configuración estérica de la base de la cloromicetina (véase pag 28) obtuvieron oxazolidinas en ambas series diestereoisoméricas con la ayuda de la reacción del p-nitrofenil-2-amino-1,3-propanediol con el dicloroacetaldehído LV, con la dietilcetona LVII y con la ciclohexanona LVIII. En todos esos casos el grupo oxhidrilo secundario y no el grupo oxhidrilo primario es el que participa en la formación del anillo de la oxazolidina. La vecindad del grupo fenilo parece aumentar su reactividad, pero, agregando exceso de dicloroacetaldehído se condensan dos moles del mismo y aparece el compuesto LIX. (2,8 bis (diclorometil)-6-p-nitrofenil-1-aza-3,7-dioxabicyclo-3,3,0-octano).



LV



LVII



De los hechos arriba citados y del estudio de las tablas 1 y 2 nos parece que podemos arriesgar la hipótesis siguiente: para que un análogo de la cloromicetina sea biológicamente activo debe llevar en la posición para un grupo funcional capaz de efectuar ligadura de hidrógeno con otra substancia (proteína) con la cual entra en combinación. Así vemos, por ejemplo, el análogo para-setilo de la cloromicetina es inactivo mientras que el análogo para-yodo presenta actividad biológica.

Capítulo 3

ESTEREOQUIMICA Y MODO DE ACCION DE LA CLOROMICETINA

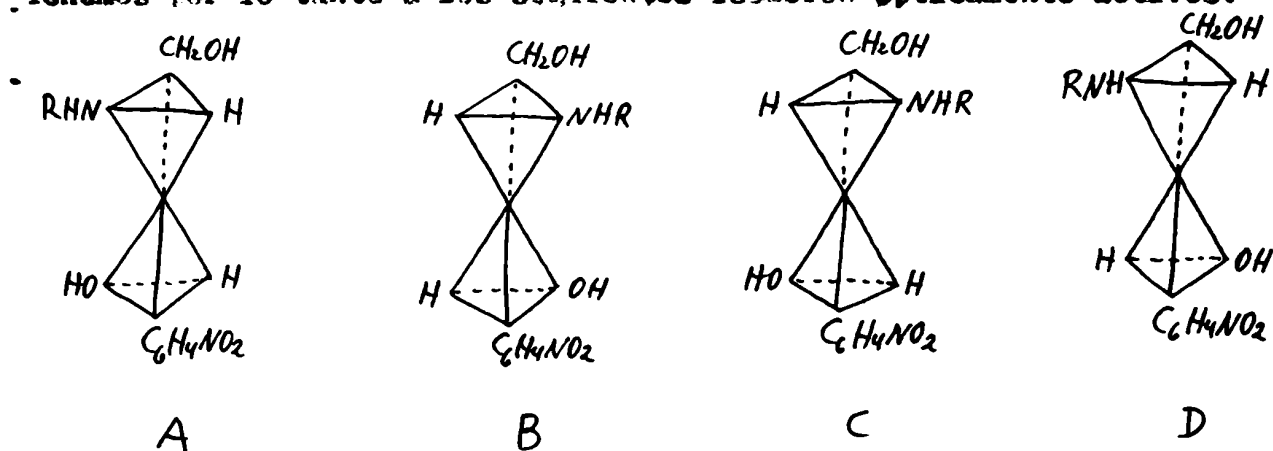
Hemos visto que el único isómero estérico de la cloromicetina biológicamente activo es la llamada: d(-)-treo-cloromicetina. Naturalmente, la forma racémica que se obtiene por síntesis es también activa y su actividad es el 50% de la actividad del isómero levo ópticamente activo. La misma afirmación es cierta para sus análogos biológicamente activos, en todos estos compuestos hay solamente un isómero ópticamente activo que presenta actividad biológica y por analogía se suele asignar a este isómero la configuración treo (47) aunque esta conclusión no tiene por que ser necesariamente válida.

Debido a la gran importancia del problema de la configuración estereoquímica de estos compuestos, discutiremos a continuación brevemente el significado de los conceptos de "treo" y "eritro".

Debemos considerar a los problemas estereoquímicos de la serie de la cloromicetina como una parte del mas amplio problema de los 1,2-amino alcoholes diastereoméricos. En la fórmula de la cloromicetina tenemos dos carbonos asimétricos, el número de los isómeros ópticamente activos debe ser por lo tanto igual a cuatro ($n=2$).

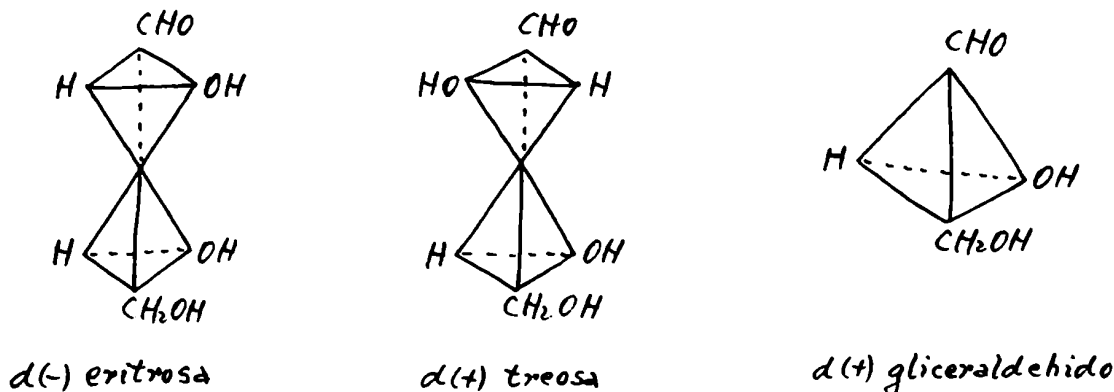
$$2^2 = 4$$

Tenemos por lo tanto a los siguientes isómeros ópticamente activos:

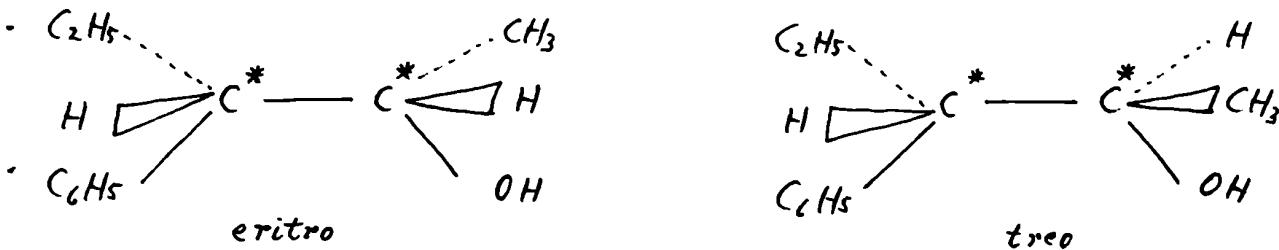


Las mezclas equimoleculares AB y CD son racematos. Las cuatro formas ópticamente activas (A, B, C y D) fueron efectivamente sintetizadas y el problema actualmente consiste en asignar una determinada configuración a cada una de ellas. Esta asignación se hace comparándolas con sustancias de estructura conocidas, elegidas como "referencia".

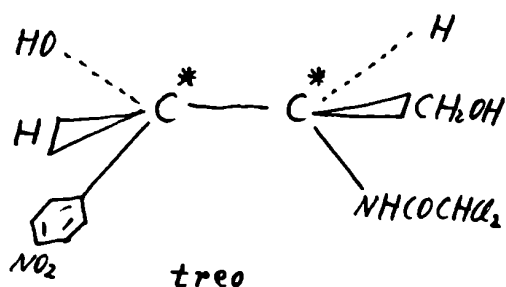
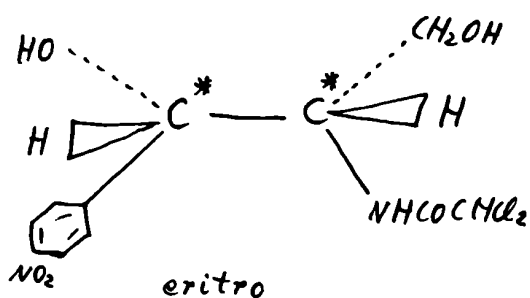
Ya hemos mencionado que esta comparación fué hecha por los autores de la primera síntesis de la cloromicetina en el año 1949 con el compuesto *d*(-)nor-pseudo efedrina (6) y con sus derivados en base a sus propiedades ópticas. Mas tarde la correlación directa fué firmemente establecida por medios químicos por Rodor y colaboradores (9) (10). Como la configuración estereoquímica de las bases e la efedra es ahora bien conocida (98) tenemos la relación de las configuraciones relativas de sus isómeros con las de la treosa y eritrosa y, en última instancia, con la del gliceraldehido.



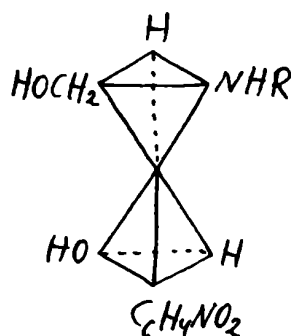
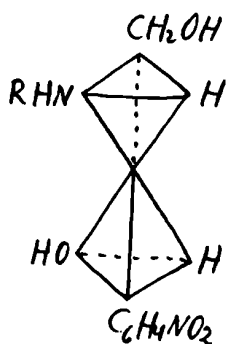
Este es el origen de los nombres "treo" y "eritro" pero aunque estos nombres se originaron en las sustancias treosa y eritrosa respectivamente actualmente los aplicamos a todas las sustancias que contienen dos carbonos asimétricos adyacentes en los cuales por lo menos dos de los grupos ligados a uno de los centros asimétricos son los mismos o semejantes a dos de los grupos ligados al otro centro (99). El término eritro siempre designa al diastereómero cuya configuración es tal que en una de sus tres conformaciones eclipsadas, por lo menos dos pares de sustituyentes de composición idéntica o similar estén uno al lado del otro. El término treo designa al otro diastereómero. Por ejemplo:



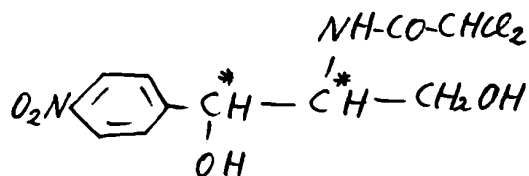
De acuerdo con esta definición las fórmulas A y B corresponden a la configuración eritro y las fórmulas C y D a la configuración treo:



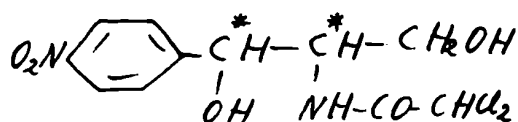
Hasta ahora hemos mencionado únicamente la "configuración" de los isómeros estéricos, es decir, al problema de saber a que serie (d-gliceraldehído o l-gliceraldehído) pertenece cada uno de los carbonos asimétricos de la molécula. Aparte de eso, subsiste otro problema, el de la "conformación" de la molécula. (Para el concepto de "conformación" véase (102)). De hecho de la figura A, por ejemplo, no podemos deducir si la ligadura entre C_1 y el C_2 tiene rotación libre o por el contrario existen varias disposiciones estables de los sustituyentes alrededor del eje C_1-C_2 (por ejemplo A_1 y A_2).



Debido a la costumbre general de usar "diagramas planos de proyección" los dos diastereómeros se representan de la siguiente manera en la literatura química:



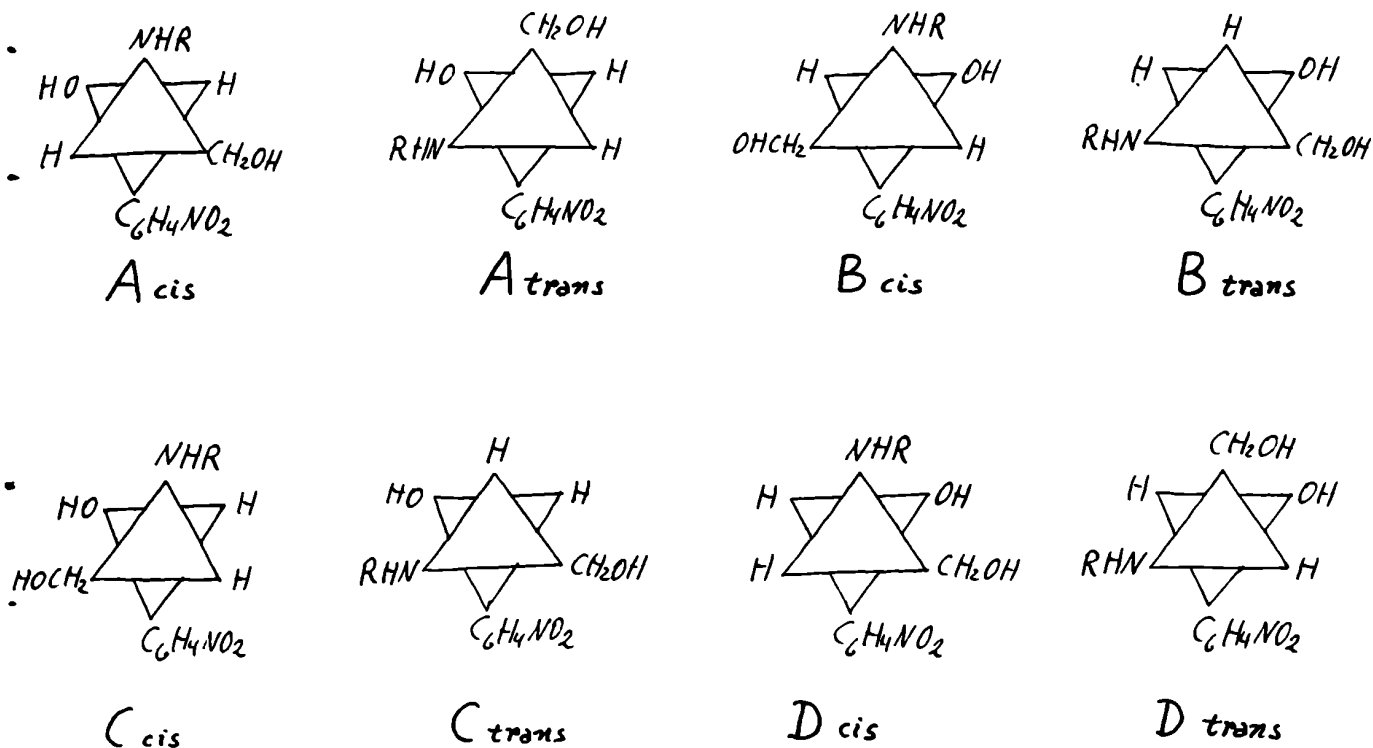
threo



eritro

(El error conceptual que aparece a veces en la literatura química (100) que la configuración eritro significa cis (y que threo significa trans) se origina quizás en la comprensión incorrecta de esas "fórmulas de proyección convencionales").

La "conformación" de la cloromicetina y de sus derivados está todavía indeterminada. Si suponemos que existe cierta restricción en la rotación, teóricamente resulta que los cuatro isómeros ópticamente activos ocasionan ocho isómeros de conformación:

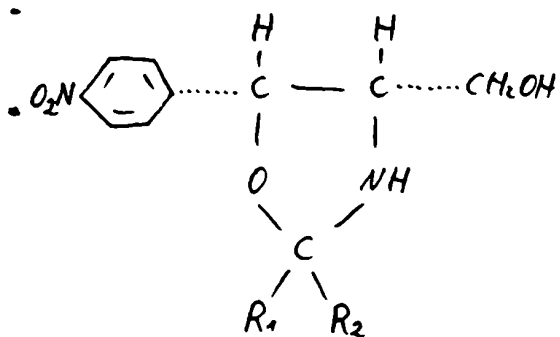


Pero de hecho conocemos solamente cuatro diastereoisómeros ópticamente activos, a saber: d-treo, l-treo, d-eritro y l-eritro cloromicetina. Los aspectos estereoquímicos de la química de la cloromicetina son muy complejos. Las diferencias estereoquímicas entre las modificaciones treo y eritro son mayores que las que corresponderían si se tratase de explicarla en términos de diferencias configuracionales. Todas las evidencias (como por ejemplo los mirra-iones de acilo de $R \rightarrow O$) señalan hacia el hecho que diferentes conformaciones son estables en cada diastereómero. Es decir, que la configuración treo tiene conformación cis y que la configuración eritro tiene conformación trans. Fodor y colaboradores (9) (10) demostraron que la cloromicetina pertenece a la serie de la seudo-efedrina y también demostraron que tiene el grupo amino y el grupo oxhidrilo en conformación cis.

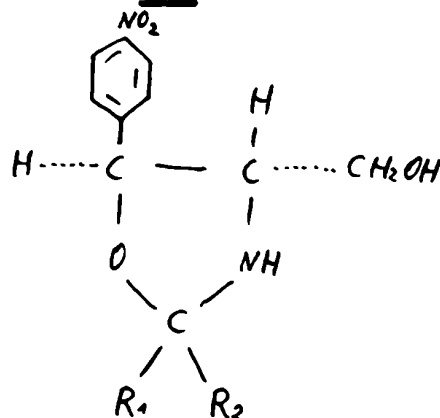
Aunque todas las reacciones indican que la asignación conformacional mencionada es correcta, la observación experimental que la efedrina (configuración eritro) y la seudo-efedrina (configuración treo) pueden formar oxazolidinas diastereoisoméricas (103) (104) y retener al mismo tiempo sus configuraciones, aparentemente parece estar en desacuerdo con dicha asignación conformacional. Pero el curso estérico de estas reacciones se explica mejor (101) asumiendo que si bien uno de los conforma-

ciones de la molécula es más estable que las otras, esto no significa que la molécula se vea compelida a reaccionar como si estuviese en esa conformación sin cambio alguno en la configuración. El isómero trans reacciona sin ningún cambio conformacional.

Bergman y Resnick (101) en la reacción de compuestos de carbonilo con trans-p-nitrofanil-2-amino-1,3-propanediol obtuvieron trans-oxazolidinas y con el isómero eritro obtuvieron cis-oxazolidinas (vease página 14)



cis-oxazolidina



trans-oxazolidina

Una contribución importante al problema es el estudio de Lunitz (105) sobre las estructuras moleculares y cristalinas de la cloromicetina y bromomicetina por análisis de rayos X. El resultado principal de este análisis es la confirmación de la estructura de la cloromicetina establecida por estudios químicos y por síntesis. Estrictamente hablando este resultado no es completamente independiente de toda información química y se aplica únicamente a la cloromicetina en estado de agregación sólida y no en solución. Pero puesto que en el cristal los átomos de cloro no toman parte considerable en ninguna ligadura intramolecular, en el caso de romperse una ligadura carbono-cloro el átomo de cloro se moverá a un nuevo estado mientras que el resto de la molécula probablemente retendrá su posición y su configuración originales por lo menos durante cierto lapso.

En resumen, las conclusiones del análisis por rayos X son las siguientes: (figura 1).

Hay un aproximamiento notable entre el O₁₅ y el O₁₆ debido probablemente a un puente de hidrógeno bastante fuerte. Se forma un anillo de seis miembros con los siguientes elementos: -O₁₅ -O₆ -O₅ -O₇ -O₁₆ -H -O₁₅. Parece muy probable que el átomo de hidrógeno ligado al O₁₅ está involucrado en la unión. Hay un aproximamiento estrecho entre el N₁₉ y el O₁₆ y entre el N₁₉ y el O₁₅. La configuración adoptada por las moléculas de cloromicetina en el cristal es muy adecuada para la interacción con grupos polares de una cadena proteínica. Los dos grupos oxhidrilo en O₁₅ y

O_{16} y también el átomo de nitrógeno N_{19} de la unión peptídica pueden ser descriptos como sobresaliendo hacia afuera de la molécula.

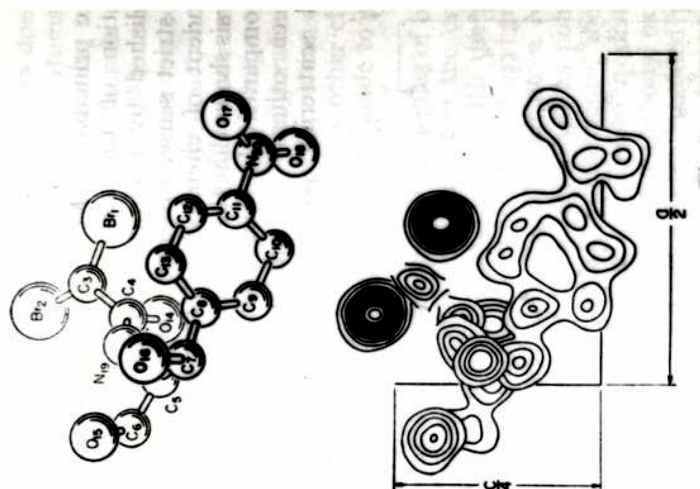
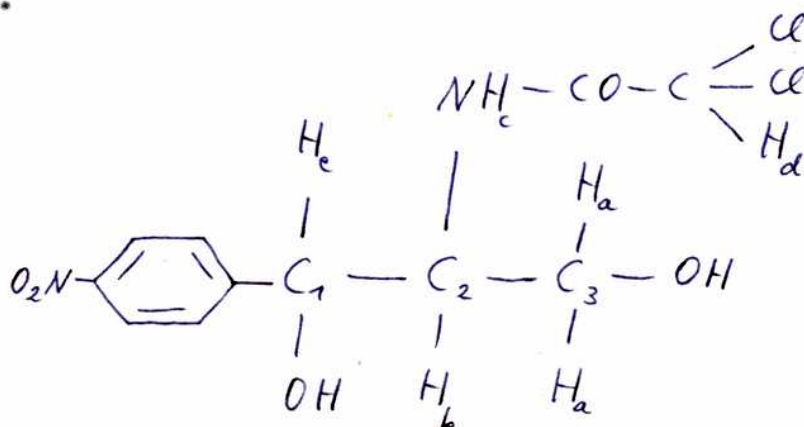


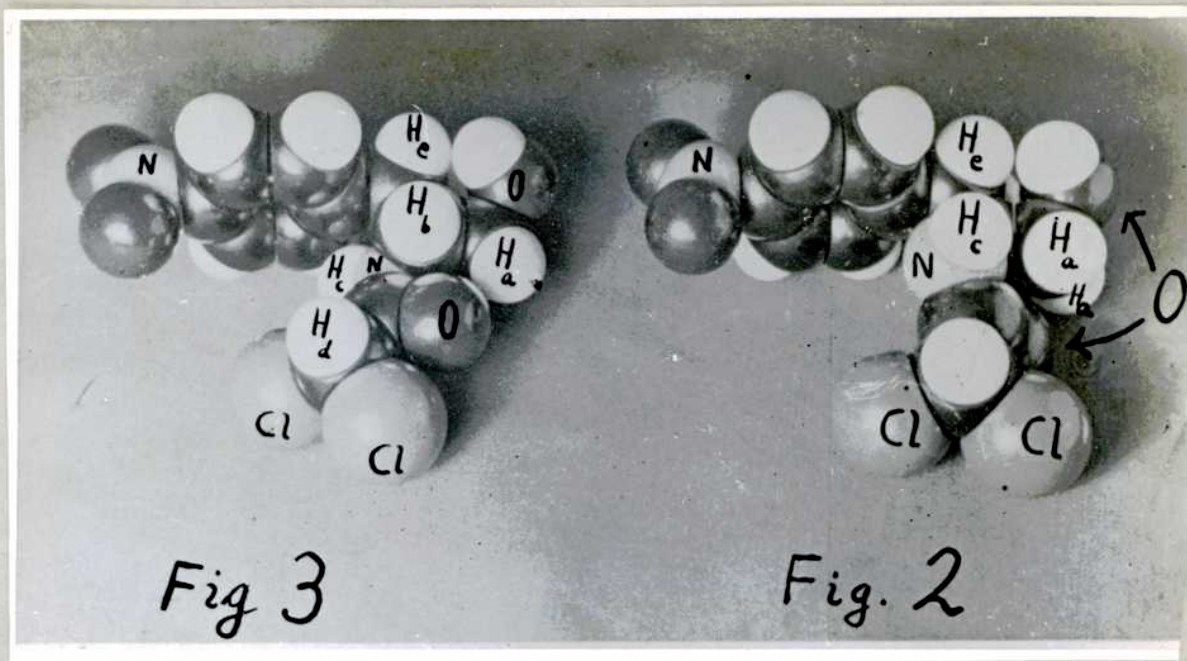
Figura 1

Las distancias entre $N_{19}-O_{15}$ y $N_{19}-O_{16}$ son muy semejantes a las distancias existentes entre un átomo de nitrógeno y uno de oxígeno carboxílico situados en un mismo lado de una cadena polipeptídica enteramente extendida. Así tenemos la posibilidad de dos puntos de adhesión entre una molécula de cloromicetina y una cadena proteínica.

Las conclusiones así obtenidas de estudios de rayos X adquieren significado al compararlas con estudios químicos y biológicos. Collins y sus colaboradores (64) demostraron que el reemplazamiento de H_a, H_b, H_c y H_d por grupos metilos ocasiona en todos los casos pérdida de la acción antibiótica.



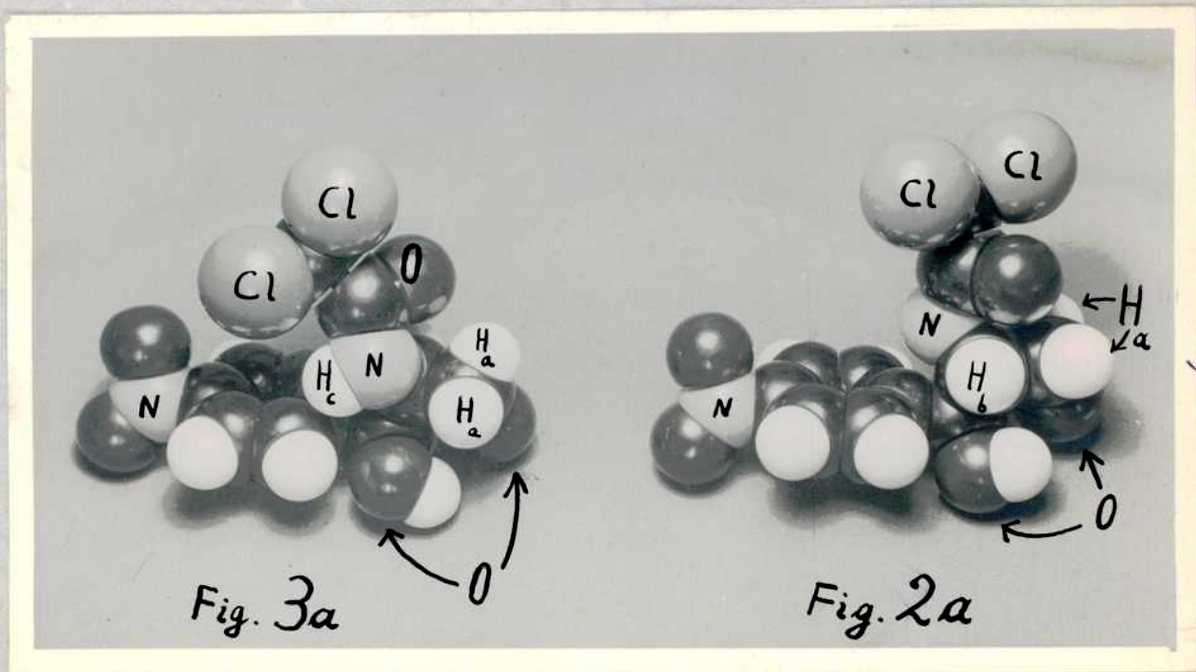
Estos hechos nos llevan a la conclusión que la combinación entre el antimetabolito y la enzima es tal que $H_a, H_b, H_c,$ y H_d están embebi-
dos dentro de la matriz proteínica (64). Si esto es cierto, se deduce que



eritro

CLOROMICETINA

treo



al reemplazar a los átomos de hidrógeno mencionados por grupos metilo se impide la estrecha yuxtaposición entre el antimetabolito y la enzima y se destruye la base azúcares en que la acción antibiótica se fundamenta. Los hechos se explican bien si se considera que la molécula de la cloromicetina tiene forma "encorvada" (figura 2 y 3) y por lo tanto los hidrógenos H_a, H_c y H_d pueden yacer dentro del cuerpo de la enzima.

Las figuras 2 y 3 muestran modelos en escala de la cloromicetina trans y eritro. Las figuras 2 y 2a coinciden con el modelo de Collins (64) y con el diagrama tetraédrico A (página 15). El otro modelo (figuras 3 y 3a) representan al otro diastereómero (diagrama tetraédrico B).

Según la definición de los conceptos de "trans" y "eritro" arriba citados, Cram (99), el modelo de Collins (figura 2 y 2a) corresponde al diastereómero trans, pero no hay correspondencia completa entre su modelo y el de Unitz (figura 1) puesto que si queremos que haya acercamiento estrecho entre N_{19} y O_{15} y entre H_{19} y O_{16} (es decir: conformación cis) no será posible hacer estructura "encorvada" con el modelo. En el otro modelo (figura 3 3a), que según la definición de Cram corresponde a la configuración eritro, es posible hacer las conformaciones cis y trans conservando la estructura "encorvada" del modelo. Estos hechos parecen estar en desacuerdo con las conclusiones de Zador (9) (10) que hemos citado más arriba según las cuales la configuración trans corresponde a la conformación cis en la serie del propanediol. Es posible que la diferencia sea de ida al hecho que estas aserciones son aplicables únicamente cuando los compuestos están en solución.

Las precedentes consideraciones nos permiten entender al modo mecánico de acción del antibiótico en una enzima faltando por determinar cual es la enzima involucrada. Un número muy grande de trabajos han sido dedicados a esta cuestión pero antes de mencionarlos creemos necesario decir unas palabras sobre los mecanismos de la acción enzimática.

Se cree actualmente que la acción antibiótica se debe a la interferencia de un antibiótico en un sistema enzimático esencial para el metabolismo celular. Las enzimas son proteínas catalíticamente activas que a menudo requieren asociación con moléculas relativamente simples, conocidas como coenzimas o grupos prostéticos para su actividad. La relación espacial entre la enzima y su correspondiente coenzima o grupo prostético se hizo discutida por Paulin, quien supone que la molécula de la proteína está formada por una cadena de polipeptidos enrollados, empacados y sostenidos en una forma específica por ligaduras de hidrógeno y por otras fuerzas entre los grupos polipeptídicos y otras funciones polares. Las moléculas de la enzima yacen estabadas en esta matriz proteica

en aquellos puntos en los cuales es posible efectuar la transferencia de iones de hidrógeno hacia y desde la cadena peptídica. Estrechamente asociadas con estas moléculas se hallan las "cavidades" estratégicamente ubicadas que representan a los centros activos por medio de los cuales las enzimas desempeñan sus funciones catalíticas.

El mecanismo de la acción enzimática puede ser descripto de la siguiente manera:

- 1) Acercamiento de la molécula del metabolito o substrato al centro activo o "cavidad".
- 2) Combinación entre la molécula del metabolito y el centro activo, precedida por una estrecha yuxtaposición entre ciertos grupos polares presentes en el substrato con grupos complementarios presentes en la enzima.
- 3) Ocurrencia de la reacción enzimática específica, y
- 4) Alejamiento de la molécula del metabolito modificado.

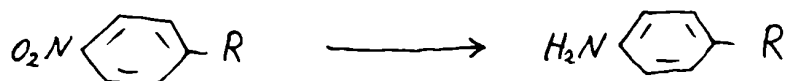
Para poder interferir con un sistema enzimático, un anti-metabolito debe llenar ciertas condiciones. 1ª) Debe tener correspondencia espacial estrecha con por lo menos aquella parte de la molécula del metabolito que es á en yuxtaposición estrecha con los grupos complementarios polares presentes en la "cavidad" de la enzima. 2ª) Debe ser capaz de formar con la enzima un complejo irreversible o un producto tal que no pueda ser convertido en el producto normal de transformación del metabolito. Compuestos que funcionan de esta manera, es decir, bloqueando el acercamiento del metabolito a su "cavidad" particular en la molécula de la enzima, se llaman "análogos antagonísticos". Así se cree que la cloromicetina funciona como antimetabolito por interferir en la transformación enzimática de un metabolito esencial. Bergmann y colaboradores (110) (111) (112) demostraron que la cloromicetina interfiere en la síntesis del indol a partir del ácido antranílico (ver ecuación, página 26).

Combinación entre el cloramfenicol y la enzima involucra a todos los grupos polares de la cadena lateral α -propano (parte B) que debe estar en yuxtaposición estrecha con los grupos complementarios dentro de la matriz enzimática. Ya hemos mencionado la conclusión (64) que la combinación entre el antimetabolito y la enzima es tal que Ha, Hb, "c y nd están embebidas en la matriz protéica.

Es interesante mencionar aquí a la teoría recientemente desarrollada por Gunther *et al.* (106) sobre los mecanismos de acción insecticida de compuestos de tipo DDT (1,1,1-tricloro-2,2-bis(p-clorofenil)etano). Partiendo de resultados experimentales los citados autores postulan una "teoría topográfica estructural" según la cual las moléculas específicas de tipo DDT se introducen en una cavidad de una apoenzima u otra proteína involucrada y se mantienen allí asociados en contacto estrecho e inhiben el normal desarrollo de las reacciones químicas subsiguientes.

Desde este punto de vista, las moléculas estrechamente empaquetadas y apretadas son buenos insecticidas, pero moléculas más grandes podrán ingresar a la cavidad solamente con gran dificultad (impedimento estérico) a la temperatura ordinaria. Esta representación topográfica involucra conceptos de complementaridad y polarizabilidad como condiciones necesarias para este tipo de acción biológica. El radio de Van der Waals del cloro y del grupo metilo en las moléculas del DDT son tan semejantes que sugieren que pueden ser equivalentes en las moléculas de tipo DDT en lo que respecta a su capacidad de introducirse en la cavidad de la proteína. Su poder insecticida equivalente puede ser entonces directamente correlacionado con las magnitudes de las fuerzas de atracción de Van der Waals hacia la proteína. De acuerdo con este postulado los citados autores (106) hallaron que el DDT completamente metilado (es decir: todos sus átomos de cloro reemplazados por grupos metilos) es tóxico para las larvas del mosquito (Culex quinquefasciatus Say).

Smith (125) y Glazko (126) demostraron que en la degradación de la cloromicetina por microorganismos el grupo nitro se reduce a grupo amina:

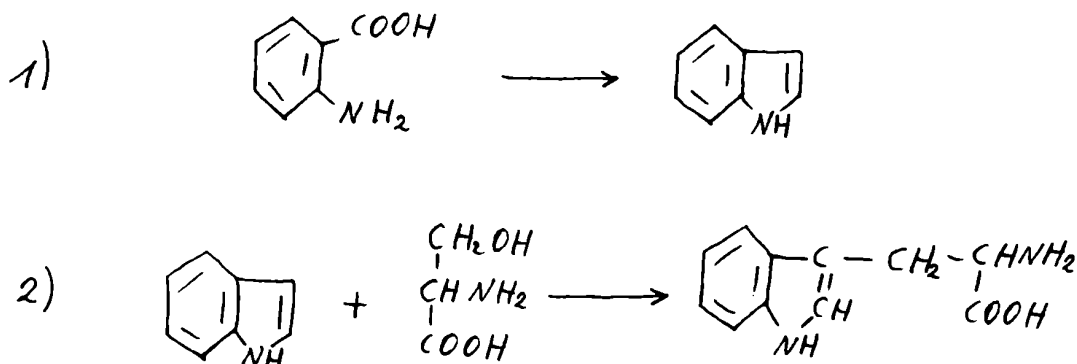


y hemos visto también que los análogos para-amino y para-metilo (VII. tabla 1) de la cloromicetina son casi inactivos. Es razonable suponer por lo tanto que esta parte de la molécula del antibiótico se halla ligada a la superficie de la enzima por ligaduras de hidrógeno. Los requerimientos estructurales de la parte A de la molécula serán por consiguiente menos rígidos que los exigidos de la cadena lateral de propanediol la cual yace embebida en la matriz protéica. Los conceptos formulados arriba implican una diferencia fundamental en las funciones asociadas con los grupos fármaco-dinámicos de la molécula específicos (cadena lateral de propanediol) y no-específicos (grupo nitrofenilo). Se ha sugerido por lo tanto (64) que estos dos tipos sean diferenciados por el uso de prefijos σ (específico) y ν (no-específico).

Ya hemos visto que respecto al modo de acción de la cloromicetina varias hipótesis han sido enunciadas: interfiere en la utilización o síntesis de los péptidos o en otras reacciones enzimáticas (107)

es antagonista de la fenilalanina (61), altera la síntesis del triptofano (108), etc.

Según Weoley (61), la cloromicetina inhibe la utilización de la fenilalanina en la *E. coli* debida a su semejanza estructural con este amino-ácido. Por el otro lado, Pruhaut, Lambia y Boyer (108) dedujeron a partir de sus experiencias con *E. typhi* que el antibiótico interfiere en las primeras etapas de la síntesis del triptofano. Dicha síntesis fué formulada por Riley (109) de la siguiente manera:



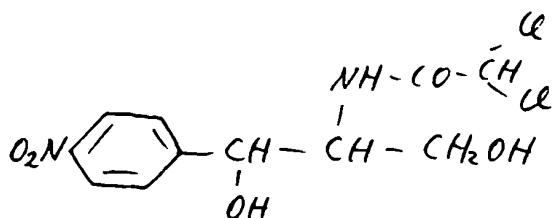
Bergmann, Sicher y Volcani demostraron (110)(111)(112) que la inhibición causada por la cloromicetina es invertida por el triptófano, por la tirosina, por la fenilalanina pero no por el ácido antrafílico. La conclusión obvia, que el antibiótico interfiere en la conversión del ácido antrafílico a indol, fué confirmada por experimentos con mutantes de *E. coli*. La inhibición causada por mutantes carentes de tirosina, de fenilalanina, de triptofano y de indol es invertida por los metabolitos correspondientes, la inhibición causada en los mutantes que requieren ácido antrafílico es invertida sólo parcialmente por el ácido antrafílico. Es razonable decir que el antibiótico impide la incorporación del único átomo de carbono que se requiere para la terminación del anillo de indol a la molécula del ácido antrafílico (ver ecuación 1).

Un estudio de las fuentes normales de este átomo de carbono ha revelado que proviene solamente del grupo metilo de la metionina. Este amino ácido, especialmente en conjunción con la vitamina B₁₂, un conocido "movilizador de los grupos metilo", invierte la inhibición causada por la cloromicetina. Lo mismo es cierto para la mutante que requiere ácido antrafílico, en lo cual se efectuó posteriormente la observación significativa que también la combinación de la homocisteína y la vitamina B₁₂ origina inhibición. Esta función de la

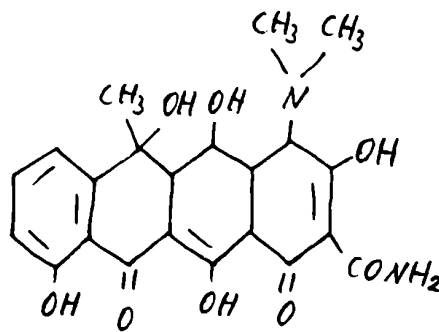
metionina no es del todo sin precedentes. Tenemos ejemplos en la síntesis de las purinas en la E. coli (113)(114)(115) y de la nicotina en la planta del tabaco (116).

Es interesante la comparación de los efectos de los otros antibióticos con los de la cloromicetina (117). La aureomicina y la terramicina inhiben al crecimiento de la E. coli por el mismo mecanismo que la cloromicetina. Esta identidad en el modo de acción de la cloromicetina, aureomicina y terramicina da una explicación bioquímica a la conocida resistencia cruzada de las bacterias hacia esos tres antibióticos. Por ejemplo, un microorganismo que adquirió resistencia a la cloromicetina, también resultó ser resistente a la terramicina y a la aureomicina (118)(119) pero no a la estreptomina (119). También los cambios morfológicos originados por la adquisición de la resistencia a la estreptomina son diferentes de los cambios causados por los otros tres antibióticos (120).

El químico orgánico espera hallar eventualmente una relación entre la estructura química de una sustancia biológicamente activa y su modo de acción. Será muy difícil hallar tal explicación para el modo de acción idéntico del cloramfenicol, un derivado del trof-e-nilserinol y la terramicina, un compuesto de la serie del naftaceno (121).



cloromicetina



terramicina

Podría esperarse que un inhibidor de la síntesis del indol sea más parecido al indol que los tres antibióticos mencionados. Con este fin, Bergmann y colaboradores (112)(117) realizaron experiencias con 5-fluoro-triptofano. Esta sustancia demostró ser un inhibidor poderoso de la Escherichia coli e interferir también en la síntesis del indol a partir del ácido antranílico. También en este caso la inhibición fue completamente invertida por la metionina. Los ácidos

4- y 5-fluoro antranílicos interfieren en el metabolismo del ácido antranílico en la Escherichia coli (127) de la misma manera que el 5-fluoro triptofano. Esta acción ha sido comprobada también en caso de sus compuestos metilados (128) en la Sbertella typhi.

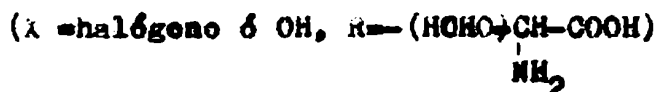
La analogía entre el modo de acción del 5-fluoro triptofano y de los antibióticos, aureomicina, terramicina y cloromicetina se pone aún más en relieve por la observación que la inhibición de una mutante de la Escherichia coli que requiere ácido antranílico se invierte también por el sistema ternario: ácido antranílico-actidina-vitamina B₁₂.



Capítulo 4

LA FENILSERINA Y COMPUESTOS RELACIONADOS CON ELLA

Hemos visto en el capítulo 1 que una de las sustancias intermediarias más útiles en la síntesis de la cloromicetina es la *p*-nitro- β -fenil serina. El hecho que tanto la treo- como la eritro-*p*-nitro- β -fenilserina presentan actividad antibiótica hacia Escherichia coli, resalta la importancia de las β -fenilserinas sustituidas en los estudios relacionados con la cloromicetina (147). Con la ayuda de esta sustancia intermediaria podemos correlacionar las configuraciones estereoquímicas de varios análogos por medio de la siguiente serie de reacciones que no afectan al carbono asimétrico (148):



En la síntesis biológica del clo amfenicol posiblemente interviene una fenil serina sustituida (112) (149), se conoce la acción contraria es decir la oxidación del cloramfenicol a *p*-nitro fenilserina (125), no cabe duda que la célula es capaz de convertir a los grupos alcohólicos primarios en grupo carboxílicos y viceversa.

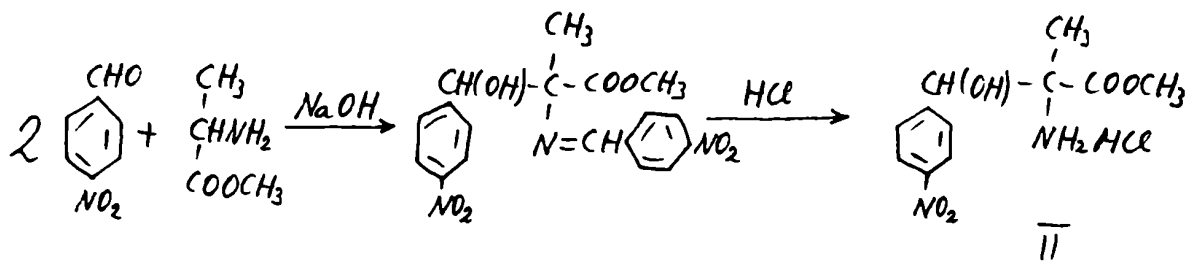
Se conoce que la serina se forma en los organismos a partir de la glicina y el aldehído fórmico, y por analogía podemos suponer que la treonina (y la alo-treonina) se forman por la condensación entre el aldehído acético y la glicina. Carece, por lo tanto, que la síntesis clásica del Erlennmayer de la fenilserina a partir del aldehído benzóico y la glicina (20) (21) (ver página 5) representa un proceso que es biológicamente posible, especialmente si se realiza el hecho que la fenilserina así obtenida tiene la misma (treo) configuración que la cloromicetina, hecho que fué comprobado por Bendas y Bergmann (29) y otros (22) (28) (147).

La constitución de la fenilserina de Erlennmayer, obtenida en forma de derivado benzilidéntico (I) a partir de la glicina y el aldehído benzóico en medio alcalino acuoso o con sodio metálico en éter (150), ha sido frecuentemente puesta en duda (151) (152) (153). Sin embargo la relación establecida entre la β -fenilserina y el

El estudio de los métodos de condensación entre ésteres de la glicina y el aldehído *p*-nitro benzóico ha demostrado que existe una serie complicada de reacciones de interconversión entre los ésteres de las dos *p*-nitro fenilserinas isoméricas (153). Parece sorprendente por lo tanto que la síntesis de fenilserinas de Erlennayer rinda exclusivamente, o casi exclusivamente, la forma trp. Sin embargo, Erlennayer ya había informado que también se forma una segunda sub-banda y recientemente Viscontini y Fuchs (155) demostraron que es la eritro-fenilserina. Un estudio sistemático del problema fué llevado a cabo por Bergmann (156) quien demostró que la temperatura en la cual se lleva a cabo la reacción tiene una influencia profunda en su curso estérico (este hecho también fué notado por Shaw y "ex (157)): a la temperatura de -5° se forma casi exclusivamente la forma eritro, su cantidad relativa decrece al aumentar la temperatura de la condensación, a 30° se produce casi exclusivamente la forma trp. Así tenemos que bajo "condiciones fisiológicas de temperatura" la fenilserina de Erlennayer tiene la misma (trp) configuración que la cloromicetina. Sin embargo el agente (álcali acuoso muy fuerte) usado para la condensación no es biogénico.

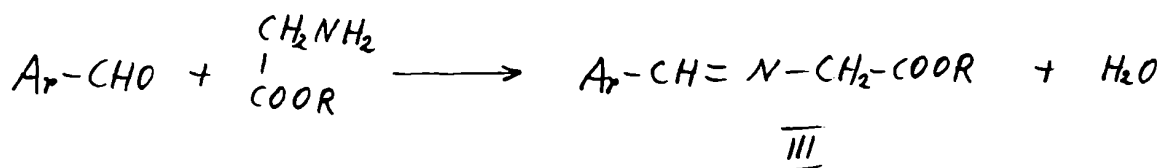
En 1951 E. M. Bergmann (149) (154) halló que los ésteres alquílicos de la glicina se condensan suavemente con los aldehídos aromáticos cuando se mantiene sus mezclas en solución alcohólica a temperatura ambiente durante pocas horas. Este método tan simple se aplica a una gran variedad de aldehídos, en general, aquellos aldehídos que se condensan con más facilidad por los métodos de condensación de Claisen o Knoevenagel, también se muestran más activos aquí.

Siendo la cloromicetina natural ópticamente activa, un método que se quiere considerar como posible camino en la biosíntesis, no debe producir racemización. Efectivamente, cuando la citada reacción de Bergmann fué aplicada a la mezcla de aldehído *p*-nitro benzóico y del éster metílico de la alanina ópticamente activa, resultó un producto (II) ópticamente activo:

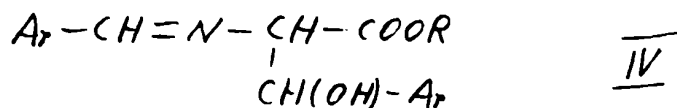


Varias fenilserinas substituídas fueron preparadas por nosotros con el método de Bergmann con el propósito de investigar la extensión de la reacción (ver parte experimental).

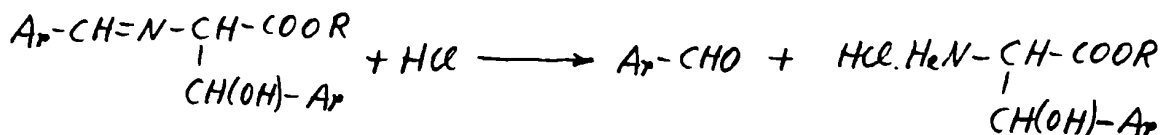
El mecanismo de la reacción es la siguiente (154): Una molécula de aldehído forma una base de Schiff (III) con el éster de la glicina:



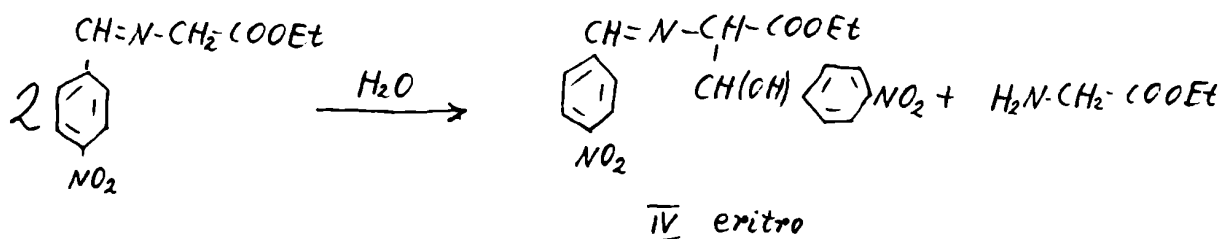
En este compuesto el grupo metilénico está activado por las dos dobles ligaduras vecinas (157) y se produce una reacción de aldolización con una segunda molécula de aldehído, produciéndose el compuesto IV



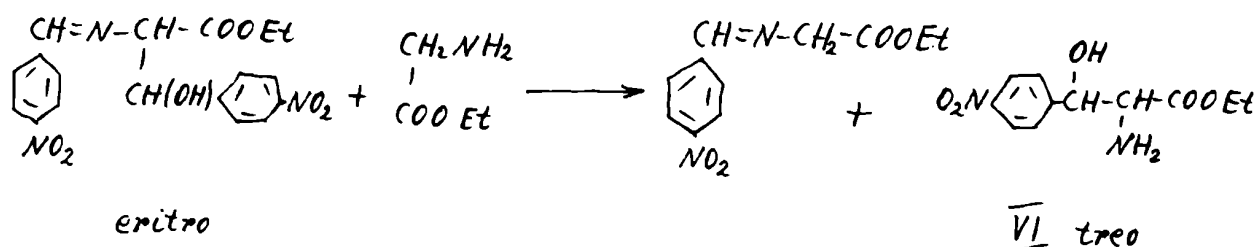
Generalmente es posible obtener a este compuesto IV en forma cristalina. (Parece que el producto de la condensación del aldehído *p*-nitrobenzónico con el éster etílico de la glicina fué obtenida en 1924 por Geragross (158) quien sin embargo interpretó equivocadamente su estructura) Si la mezcla de la reacción se trata, antes o después de la aislación del compuesto IV, con un ácido, la ligadura doble C=N se hidroliza y se forma el clorhidrato del correspondiente éster de la fenil serina, V, disolviéndose en la solución la mitad del aldehído aromático usado:



Aparentemente hay una objeción a la tesis de que el método arriba citado sea un posible camino en la biosíntesis. El producto obtenido, V, exactamente en las condiciones descritas (un mol del éster de la glicina y dos moles del aldehído p-nitro o benzoico) tiene configuración eritro. Sin embargo se halló (160) que en la presencia de una base o aún con un exceso del éster de la glicina, el producto formado tiene configuración treo. La base de Schiff, II, inicialmente formado a partir del éster de la glicina y del aldehído p-nitro benzoico, cuando se mantiene en presencia de alcohol se transforma gradualmente en el éster etílico de la eritro-N-(p-nitrobenzilideno)-p-nitro fenilserina (IV, Ar=C₆H₄NO₂; R=Et);



La interacción de este último producto con un exceso del éster de la glicina conduce al éster etílico de la treo-p-nitro fenilserina, VI:

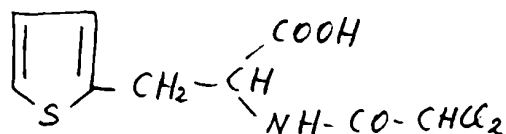


En conformidad con lo expuesto, la condensación del aldehído p-nitro benzoico con un exceso del éster etílico de la glicina sin solvente produce directamente al éster etílico de la treo-p-nitro fenilserina cristalina, (160).

Discutiremos a continuación las distintas variaciones aplicadas a los métodos de condensación de Erlennayer y de Bergmann y sus influencias en la condensabilidad de los aldehídos aromáticos.

Ya hemos visto que la técnica de Erlennayer consiste en la condensación de la glicina con el aldehído benzoico en solución acuosa alcalina a la temperatura ambiente, siendo el derivado N-bencilidénico de la fenilserina el producto inal. Erlennayer anunció

nico de la fenilserina el producto final. Erlennayer anunció también que otros aldehídos (excepto el aldehído p-anísico) no reaccionan análogamente. Sin embargo, la dl- β -(2-tienil)serina, XXV tabla 3 (ya partir de ella el compuesto XLVIII) han sido preparados con este método.



XLVIII

El método de Erlennayer fué después mejorado (169)(166)(22) y modificado por Rosenmund y Bornsaft(150). Estos autores lograron la condensación de los aldehídos aromáticos con los ésteres de la glicina mediante el uso del sodio en éter a la temperatura ambiente. Aplicaron la reacción a los aldehídos anísico (IX), p-carbetoxybenzaldehído (X), O-carbetoxyvanillinico, (XV) O,O'-dicarbetoxy-protocatéquico(XIV), y p-nitro benzóico.

Dalgliesh (164)(165) preparó, con la variación de Rosenmund y Bornsaft, derivados de la β -(3,4-diethyl-carbonatofenil)-N-metilserina a partir del éster etílico de la sarcosina.

Una variación del método de condensación de Bergmann consiste en el uso de la trietilamina como catalizador (148). Otra variación consiste en el uso del clorhidrato del éster de la glicina con sodio metálico en metanol absoluto (148) (aldehído p-clorobenzóico, XXIII, (154)). También fueron desarrollados por Bergmann (149) (154) métodos de condensación azeotrópicos y fotoquímicos (157). (Para discusiones detalladas de esas reacciones véase la parte experimental, página 70).

Elphinstoff-Felkin, Felkin y Elvart (160) lograron la condensación del aldehído p-nitro benzóico con el éster etílico de la glicina sin solvente a la temperatura ambiente.

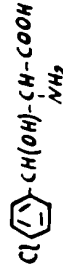
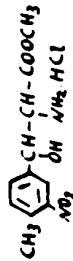
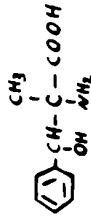
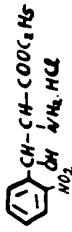
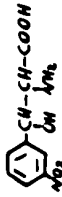
Ehnhart (173) usó hidróxido de calcio en alcohol diluido para la condensación de la glicina y el aldehído p-nitro benzóico.





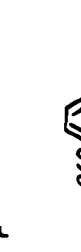
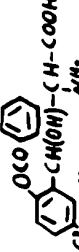
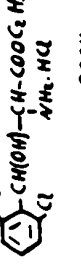
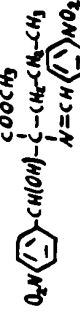
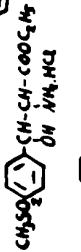
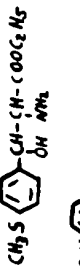
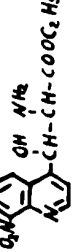
Bolhofer (170) modificó a la síntesis original de Erlennayer reemplazando la solución acuosa del álcali por solución de hidróxido de potasio en alcohol absoluto. El procedimiento así modificado fué empleado también por otros investigadores (67)(172)(177).

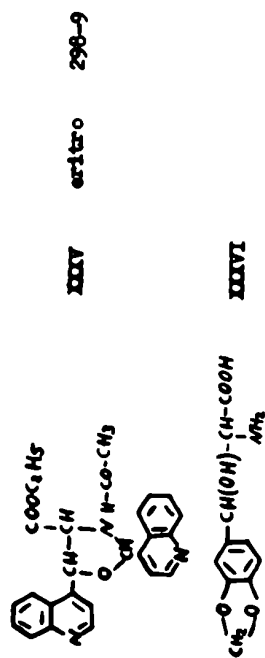
TABLA 3

| <u>Configuración</u> | <u>Punto de fusión</u> | <u>Bibliografía</u> |
|----------------------|--|--|
| VII | treo 195-6; 190; 200-2; 194-5; 198-203 monohidrato; 191-2(d); 193-4(d) 202; 260; 260; 192 | 20 21 151 22 149 20 21 156 162 163 150 |
| VIIa | treo 195-205; 188 197(d); 215-20; 217; 212 | 170 148 149 171 150 148 |
| VIII | eritro 185-186 | 150 |
| VIIIa | eritro 124 olomhidrato; 187-8(d); 181; 157 N-acetil-; 92-94 | 150 164 164 164 |
| IX | eritro 190-2 | 170 |
| X | eritro 151-2; 152-3 picrato del éster etílico; 152 (N-metil-)picrato del éster etílico: 144 | 150 164 164 164 |
| XI | eritro 220-5 | 170 |
| XII | eritro 208-210; 219-221 monohidrato; 199-200 picrato; 90-92 N-metil-; 233 | 150 164 170 164 164 |
| XIII | eritro monohidrato; 146-7(d) 180-5(d) | 170 170 |
| XIIIa | eritro 195 | 150 |
| XIV | | |
| XIVa | | |
| XV | | |

| | | | |
|--------|--------|--|-------------------------------|
| XVI | treo | 225(d); 230(d) | 170 171 |
| XVIIa | eritro | 175(d) (N-acetil-), éster etílico: 139-141 | 171 171 |
| XVII | treo | 185(d) | 170 |
| XVIII | eritro | 203 alcarhidrato del éster etílico: 180-4; 182 alcarhidrato del éster metílico: 190; 191 | 149 154 149 154 154 154 |
| XIX | eritro | 141; 164 éster etílico: 121 | 149 + + |
| XX | treo | 119 alcarhidrato: 154 | + + |
| XXa | eritro | alcarhidrato: 170-1 (N-p-aminobencimideno), éster metílico: 278 éster etílico: 129 | + 149 + |
| XXI | eritro | 105 | 149 |
| XXII | eritro | 179(d); 181(d) | 154 154 |
| XXIII | treo | 175-6; 179 N-acetil-; 176 N-p-aminobencimideno-; 126-8 178 | 148 148 148 + |
| XXIIIa | eritro | N-acetil-; 165 alcarhidrato del éster benoílico: 232(d) | 148 148 154 |
| XXIV | treo | 205(d) N-acetil-; 124-5 N-fenacetil-; 161-2 | 148 148 173 |
| XXIVa | eritro | 205-7(d); 205-7(d) | 148 165 |



| | | | | |
|---|---------------|--------|--|----------------|
|  | XIV | treo | 203(d); 194-5 monohidrato: 179-181 | 89 172 87 |
|  | XVI | treo | 207-8 éster etílico: 77-78 oxalato: 141 | 67 67 67 |
|  | XVII | eritro | 136 clorhidrato: 156; 160 | 154 154 154 |
|  | XVIII | treo | 194-6 clorhidrato del éster etílico: 182-4(d) éster etílico: 166-7 | ♦ ♦ ♦ |
|  | XVIIIa | eritro | 187-8 clorhidrato del éster etílico: 180-1(d) éster etílico: 107 | ♦ ♦ ♦ |
|  | XIX | | 157-8 | ♦ |
|  | XX | eritro | 170(d) clorhidrato del éster metílico: 198 | 154 149 |
|  | XXI | eritro | 130 | ♦ |
|  | XXII | eritro | 160-1; | 101 26 |
|  | XXIII | eritro | clorhidrato: 165-6(d) N-(metil-m-oxeptocendilidamo)-: 274-6 | 101 101 |
|  | XXIV | eritro | 181-2 N-(8-nitroquinolidamo-4)-: 145-7 | 101 101 |



Nota: + presentes. antotona.

según (156) el punto de fusión correcto del compuesto VIIa es 202°.

Veamos ahora cual es la configuración estérica de los compuestos obtenidos en los métodos de condensación recién descriptos. Este problema adquirió gran importancia y fué objeto de estudio por parte de varios investigadores en los últimos años debido al descubrimiento que solamente el estereoisómero tres de la cloromicetina tiene propiedades antibióticas.

Ya hemos mencionado que la configuración de la fenilserina de Erlennayer obtenida a la temperatura ambiente (VII, tabla 3) es idéntica con la de la cloromicetina (22) (28) (29) (enfriando la mezcla restante a -5° , se obtiene configuración eritro, VIIa). Esta identificación se basa en el hecho que la fenilserina de Erlennayer fué convertida por un procedimiento no ambiguo en el antibiótico cloramfenicol que muy probablemente posee configuración tres (6) (9) (10) (ver capítulo 1).

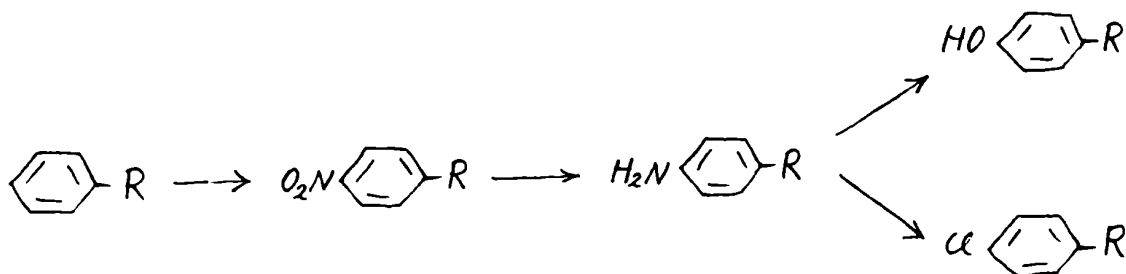
El hecho que la configuración de la fenilserina de Erlennayer puede considerarse como bien establecida (tres), indujo que se asigna la misma configuración a los análogos de la fenilserina sintetizados por este procedimiento. Este es el caso del análogo tienilo (XXV) (87) (89) y del análogo furilo (XXVI). Para sintetizar al análogo furilo Hayes y Gever (67) usaron un procedimiento modificado (KOH en alcohol absoluto en vez de KOH en agua) y por lo tanto no se justifica del todo la asignación de la configuración tres al producto obtenido. Pero, este procedimiento modificado (KOH en alcohol absoluto) fué investigado posteriormente por Bolhofer (170) quien demostró que los productos obtenidos, VIII, XI, XIII, XIV tienen configuración tres (solamente en el caso del compuesto XIV obtuvo Bolhofer una mezcla de los dos estereoisómeros).

Bolhofer demostró la configuración de los productos por él obtenidos de la siguiente manera (170) (171): Comparó la p-hidroxi-fenilserina (XVI) y la p-benciloxi-fenilserina (XVII) con muestras auténticas de estos compuestos obtenidos (a) a partir del acetato de p-benciloxibenzoilo por reducción y aminación y (b) a partir de los productos anteriores invirtiendo sus configuraciones con cloruro de tionilo (285). Se supone generalmente que el tratamiento con cloruro de tionilo ~~implica~~ siempre la transformación eritro tres, y la asignación de la configuración fué hecha sobre esa base. De manera análoga, Bolhofer identificó a los análogos p-hidroxi que obtuvo comparándolos con la eritro-p-hidroxi-fenilserina (VIIa) obtenida a partir del acetato de p-hidroxi-benciloxibenzoilo y también comparándolos con la p-hidroxi-fenilserina (VIII) obtenida por Holland, Jenkins y

Naylor (148) (ver más adelante).

La afirmación adicional de Bonhofer que todos los isómeros eritro de la fenilserina muestran en sus espectros de absorción una banda de 11.90-1195 μ no fué confirmada por nuestras experiencias (ver página 80). Por lo tanto no se justifica la asignación de la configuraciones treo y eritro a los compuestos XIII y XIIIa respectivamente basándose únicamente en la presencia o ausencia de dicha banda de absorción. Sin embargo la mencionada asignación de configuraciones puede justificarse si se supone que todos los compuestos preparados con la modificación de "olhofer (KOH en alcohol absoluto) tienen configuración treo.

Los trabajos de Holland, Jenkins y Naylor (148) son de gran importancia en la determinación de las configuraciones de las fenilserinas substituídas en para. A partir de la treo-fenilserina, estos autores prepararon a los análogos p-nitro-, p-amino-, p-hidroxi-, y p-cloro de la fenilserina por medio de la siguiente secuencia de reacciones que no afectan al átomo de carbono asimétrico:



La ausencia de inversiones en esta serie de reacciones está prácticamente comprobada. También ha sido identificada la p-cloro fenilserina (XXIII) obtenida por el método de condensación de Enlemayer con la substancia obtenida en la serie de reacciones arriba citada. La misma serie de reacciones fué repetida con la serie eritro, usando como compuesto de partida a la eritro-p-nitro- β fenilserina (XXXVIIa) obtenida por el método de Bergmann ligeramente modificado (triethylamina como catalizador).

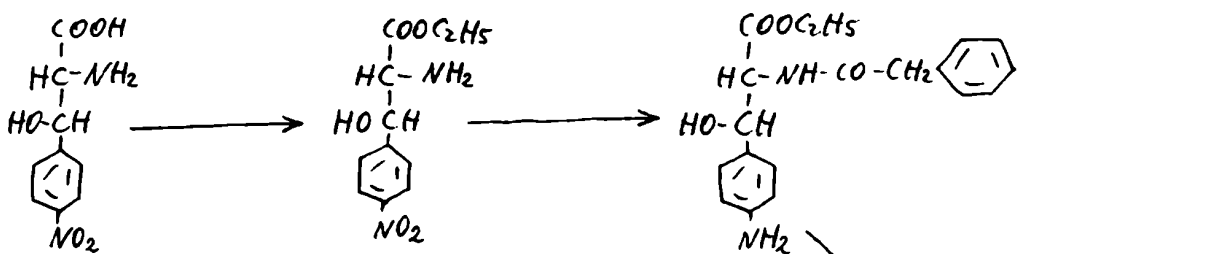
El procedimiento de condensación de Bergmann produce, como producto principal, compuestos de configuración eritro (sin embargo hemos visto, página 30, que el isómero treo puede formarse en la presen-

cia de una base o aún con un exceso del éster de la glicina). En el caso de la condensación del aldehído *p*-nitro benzoico con el glicinato de etilo la configuración del producto resultante ha sido probada por la comparación de las constantes físicas de sus derivados con las propiedades de los derivados de la *p*-nitro fenilserina tabulados en la tabla 4. Podemos suponer que todos los productos de la condensación de los aldehídos aromáticos con los ésteres alquílicos de la glicina formados en las mismas condiciones poseen configuración eritro. Las variaciones del método de Bergmann, como, por ejemplo, el uso de la trietilamina como catalizador, etc. (ver página 39) también producen compuestos que pertenecen a la serie eritro. Pero por el otro lado, la condensación del aldehído *p*-nitro benzoico con el éster etílico de la glicina sin solvente (160) produce la *p*-nitro-fenilserina de configuración idéntica a la fenilserina de Erlenmayer (ereo).

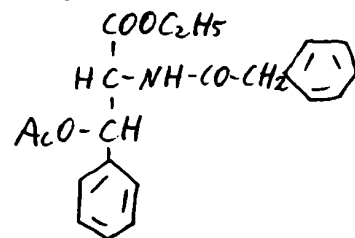
En la condensación azeotrópica en presencia de benceno hirviente de Bergmann (154) el aldehído *p*-nitro benzoico y el aldehído *p*-nitro benzoico producen compuestos de la serie eritro. Suponemos por analogía que en los otros casos estudiados (aldehído 2,6-dicloro benzoico (XXX), aldehído 4-metil-3-nitro benzoico (XXXII) y el aldehído 5-nitro furfúrico) también, el compuesto resultante pertenecerá a la serie eritro. También se supone que las condensaciones fotoquímicas de Bergman conducen a compuestos de configuración eritro.

Ehrhart (173) demostró de la siguiente manera que su *p*-nitro fenilserina (obtenida con catalizador de hidróxido de calcio) posee configuración ereo: Obtuvo al compuesto XXXVII por condensación y a partir del mismo preparó al éster etílico de la *O*-acetil-*N*-fenilacetil-fenilserina (II). Este último compuesto (II) es idéntico al compuesto obtenido a partir de la fenil serina (VII).

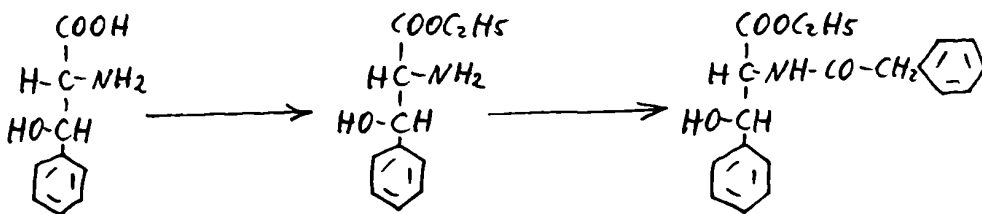
Ya hemos citado que en 1919 Rosenmund y Dornsift (150) efectuaron condensaciones en éter, usando sodio metálico como catalizador. La fenilserina así obtenida fué supuesta idéntica con la fenilserina de Erlenmayer. Posteriormente varios análogos fueron preparados con este procedimiento y Bolhofer (171) y Holland et al. (148) demostraron que uno de ellos, la *p*-hidroxi-fenilserina (VIIa), pertenece a la serie eritro comparando sus propiedades con compuestos de configuración estereo-química conocida (*m*- y *p*-hidroxifenilserinas y sus derivados)



XXVII



II



VII

Dalgliesh (165) aisló en la condensación del aldehído *p*-nitro benzoico con el éster etílico de la glicina con sodio metálico un compuesto de punto de fusión 139° que fué identificada por Bergmann (149) como el éster etílico de la *N*-(*p*-nitrobencilideno)-*p*-nitro fenilserina (XLVa). La tabla 4 muestra que el producto XLVa y el clorhidrato del β-*p*-nitro fenilserinato de etilo (XLia) obtenidas por Dalgliesh tienen configuraciones eritro. Así tenemos que en dos casos (aldehídos *p*-hidroxi y *p*-nitro benzoicos) la condensación con sodio conduce a compuestos de configuración eritro.

Per lo tanto suponemos que todos los productos de la condensación de los aldehidos aromáticos con los ésteres alquílicos de la glicina formados en éter con catalizador de sodio metálico poseen configuración eritro.

Podemos resumir a las consideraciones arriba expuestas en la siguiente manera:

Los productos de condensación principales obtenidos en los métodos de:

Erlenmayer a la temperatura ambiente.

Bolhofer,

Elphinstone-Selkin, et al. (sin solvente)

Ehrhart

tienen configuración treo, y los obtenidos en los métodos de:

Erlenmayer a 05°

Bergmann (y sus variaciones) y

Rosenmund y Bornsaff

tienen configuración eritro.

→ - - - - -

Capítulo 5

INFLUENCIA DEL FLUOR EN LAS PROPIEDADES BIOLÓGICAS DE LAS

SUBSTANCIAS ORGANICAS

La substitución del hidrógeno por un fluor en un compuesto orgánico produce un cambio relativamente pequeño en el punto de ebullición, en comparación con los otros halógenos. Por ejemplo, la substitución de un H por un F en el metano produce un aumento substancial en el punto de ebullición, pero la substitución posterior ya produce un descenso en el punto de ebullición. En el caso de los clorometanos (179) (tabla 5) aumenta el punto de ebullición con el grado de substitución. Otro ejemplo interesante de la influencia del fluor en el punto de ebullición se ilustra con los fluorobencenos (203).

T A B L A 5

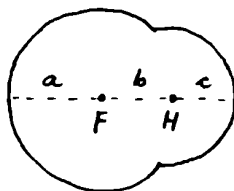
| <u>Compuesto</u> | <u>Punto de eb.</u> | <u>Compuesto</u> | <u>Punto de eb.</u> |
|--------------------------------|---------------------|---------------------------------|---------------------|
| CH ₄ | -161 | CH ₄ | -161 |
| CH ₃ F | -78 | CH ₃ Cl | -24 |
| CH ₂ F ₂ | -52 | CH ₂ Cl ₂ | 40 |
| CHF ₃ | -82 | CHCl ₃ | 61 |
| CF ₄ | -128 | CCl ₄ | 76 |

| <u>Compuesto</u> | <u>punto de ebullición</u> |
|----------------------------|----------------------------|
| benceno | 80.0 |
| fluorobenceno | 84.8 |
| o-difluorobenceno | 93.0 |
| p-difluorobenceno | 98.5 |
| 1,2,4-trifluorobenceno | 88.0 |
| 1,3,5-trifluorobenceno | 75.0 |
| 1,2,4,5-tetrafluorobenceno | 87.0 |
| 1,2,3,5-tetrafluorobenceno | 83.0 |
| perfluorobenceno | 81.5 |

Las propiedades de los compuestos orgánicos del fluor pueden ser explicados conociendo las propiedades físicas fundamentales del átomo de fluor. Los datos de mayor importancia para esas consideracio-

nes son que el radio del átomo de fluor es casi idéntico al radio del átomo de hidrógeno y que el átomo de fluor posee la mayor electronegatividad, es decir, la mayor afinidad electrónica y el potencial de ionización más elevado. En efecto, la distancia F-F en la molécula de fluor es de 1.435 A, mientras que la distancia H-H en la molécula del hidrógeno es de 1.4828 A. El radio de Van der Waals de los dos átomos son: 1.36 A (fluor) y 1.0 A (hidrógeno).

En las molécula simples tales como HF y CH₃F (que han sido extensivamente estudiados por el método de difracción de electrones) las distancias H-F y C-F son de 0.917 A y 1.384 A respectivamente. Si tenemos en cuenta que el radio del hidrógeno es de 0.741 A y el del carbono alifático es de 0.755 A, obtendremos para el radio del fluor el valor absurdo de 0.176 A y 0.609 a respectivamente:



Radio del fluoruro de hidrógeno

- a: Radio de Van der Waals del ion fluoruro: 1.36 A
- b: Distancia intermolecular: 0.9166 A
- c: Radio de Van der Waals del hidrógeno: 1.0 A

El átomo de fluor penetra dentro de los átomos de hidrógeno y carbono, o, en otras palabras, estas uniones son muy polares aún en medio de constante dieléctrica baja. Esto se traduce también en las energías de unión, cuando mayores son éstas, más grande es la energía de resonancia iónica de la ligadura (231) :

T A B L A 6

Energías de ligadura (kcal/mol)

| | F | Cl | Br | I | H | C |
|----|------|------|------|------|-------|-------|
| F | 63.5 | 86.4 | | | 147.5 | 107.0 |
| Cl | 86.4 | 57.8 | 52.7 | 51.0 | 102.7 | 66.5 |
| Br | | 52.7 | 46.1 | 42.9 | 87.3 | 54.0 |
| I | | 51.0 | 42.9 | 36.2 | 71.4 | 45.5 |

Energías de ligadura (kcal/mol) (continuación)

| | | Cl | Br | I | F | C |
|---|-------|-------|------|------|-------|------|
| H | 147.5 | 102.7 | 87.3 | 71.4 | 103.4 | 87.3 |
| C | 107.0 | 66.5 | 54.0 | 45.5 | 87.3 | 58.6 |

Podemos esperar por lo tanto que el átomo de fluor será similar al átomo de hidrógeno en todas las propiedades moleculares que son funciones del tamaño de los átomos, pero que se comportará como un sustituyente muy polar por ejemplo en fenómenos de absorción. Como ejemplo podemos citar al espectro de absorción del fluorobenceno (232). La introducción del átomo de fluor en la molécula del benceno aumenta la intensidad de la absorción asemejándose más en ese respecto a los grupos metoxilos que a los otros halógenos;

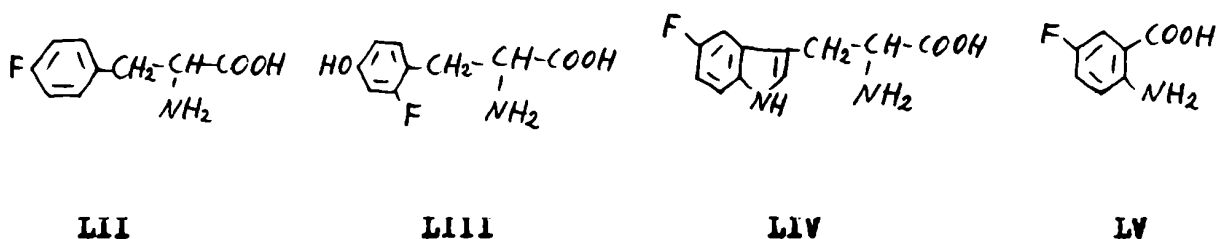
| | λ | ϵ |
|---------------|-----------|------------|
| benceno | 2550A | 300 |
| clorobenceno | 2640 | 300 |
| fluorobenceno | 2600 | 1500 |
| anisol | 2720 | 2200 |
| anilina | 2350 | 8900 |

Así tenemos que el tetrafluoroetileno se climeriza bajo presión a temperaturas bajas exactamente igual que el etileno y que una sustancia como el yoduro de pentafluoroetilo es capaz de dar derivados de Grignard exactamente igual que el yoduro de etilo. El copolímero de 2,3-difluorobutadieno se asemeja mucho al poli-butadieno, con la excepción de su menor resistencia a bajas temperaturas, y el polímero del 2-cloro-3-fluoro butadieno tiene las mismas propiedades tensiles y resistencia a los solventes que el 2-cloro butadieno polimerizado (cloropreno) y una mayor resistencia al ozono (204).

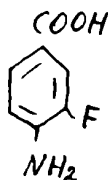
Las consideraciones precedentes nos permitirán entender a las propiedades biológicas de los compuestos orgánicos del fluor. Podemos esperar que en todos los casos en que el tamaño del substituyente es un factor decisivo (es decir, en los casos en que las propiedades biológicas de la molécula no se alteran al cambiarse las propiedades polares de la parte biológicamente activa de la molécula por la presencia del átomo de fluor), la substitución del hidrógeno por el fluor no producirá cambio remarcable en las propiedades biológicas del compuesto. En cambio, cuando la reacción biológica se basa en las propiedades polares de la molécula, como por ejemplo en los procesos de absorción y en particular cuando el átomo de fluor

está en la vecindad de los grupos llave de la molécula, las propiedades fisiológicas de la sustancia sufrirán un cambio fundamental.

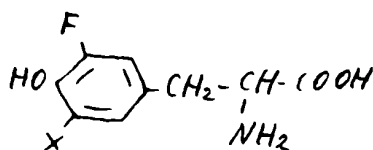
Algunas de las observaciones más interesantes de la biología de los compuestos orgánicos del fluor fueron hechas en la serie de los aminoácidos aromáticos. Los siguientes compuestos fueron sintetizados: *o*-, *m*-, y *p*-fluoro-fenilalanina (LII) (234)(240), 2-fluoro-tirosina (LIII) y su éster metílico (235), 3-fluoro-tirosina (236), 5-fluoro-triptofano (LIV) (237), ácido 5-fluoro-antranílico y 4-fluoro-antranílico (LV) (127).



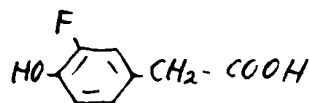
El 5-fluoro-triptofano es un inhibidor poderoso de la E.coli (112)(117), este compuesto y también el ácido 4-fluoro-antranílico y el 5-fluoro-antranílico interfieren en el metabolismo del ácido antranílico en la E.coli (127) (ver página 33). El ácido 3-fluoro-4-amino-benzoico (LVI) es un antagonista tan efectivo del ácido *p*-amino benzoico en la E.coli como la sulfanilamida (238), es decir, es contrastado por esta hormona. Hace bajar al metabolismo basal y puede, por lo tanto, ser usado en el tratamiento de la hipertireosis, pero es bastante tóxico (dosis letal: 11 mg/kg, correspondiendo al 1 mg de fluor). Es por lo tanto interesante acotar aquí que la 3-fluoro-5-yodo tirosina (LVII, X=I) y la 3-fluoro-5-bromo tirosina (LVII, X=Br) son mucho menos tóxicas (57 y 78 mg/kg respectivamente: 3.3 y 5.0 mg de fluor) y que también el ácido 3-fluoro-4-hidroxi-fenilacético (LVIII) es un antagonista de la tiroxina. Aquí, sin duda, es la parte del núcleo substituido de la molécula aromática la responsable de estos efectos, es decir, la polaridad del átomo de fluor prevalece sobre su tamaño reducido.



LVI



LVII

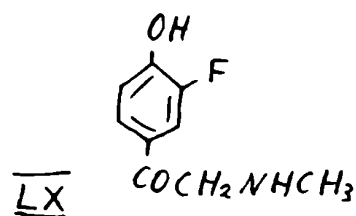
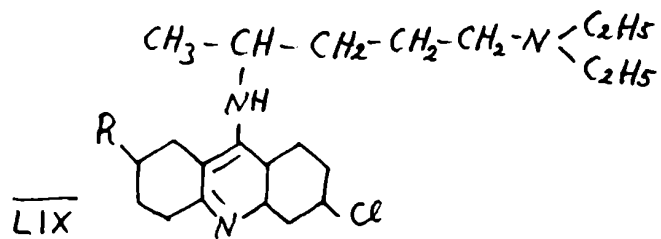


LVIII

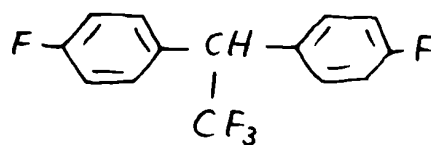
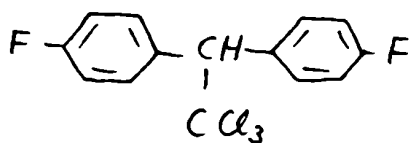
Estudios semejantes han sido hechos por Bergmann, Sicher y Volcani (127) (239) (241) con la orto, meta-, y para-fluoro-fenilalanina en E. coli. Estos compuestos fluorados interfieren con la utilización de la fenilalanina, es decir impiden la conversión de la fenilalanina en tirosina. La p-fluoro-fenilalanina también interfiere en el metabolismo de la fenilalanina en la L. arabinosus (242) y en los ratones (243).

La m-fluoro-fenilalanina es tóxica para los ratones (244) y es un inhibidor de la Mercurispora crassa (245). Es interesante mencionar que los metabolitos activos que contienen un grupo metilo o un átomo de fluor (p-metil-, y p-fluoro-fenilalanina) tienen aproximadamente el mismo peso molecular. En concordancia con las observaciones en los ácidos antrañlicos análogamente substituidos (241) los compuestos con fluor son considerablemente más activos que la fenilalanina metilada. Así parece que la polaridad del substituyente desempeña un papel importante. También se puede ver un factor contribuyente en la observación que en muchos compuestos aromáticos el hidrógeno puede ser reemplazado isomorfogénicamente por el fluor (246). Sin embargo, solo el factor de polaridad puede explicar satisfactoriamente la secuencia de actividades de las tres fluoro-fenilalaninas (p > o > m) observadas también en la levadura por Halvorson y Spiegelman (247).

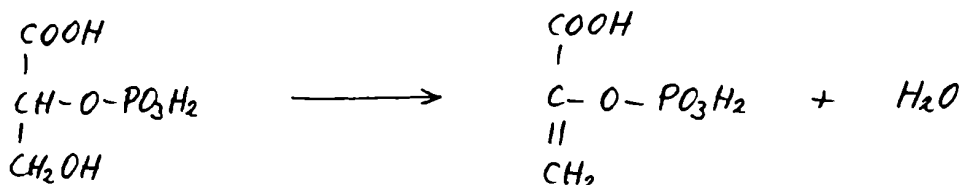
Una investigación sistemática fué efectuada para ver la influencia que tiene la introducción e substitución del fluor en la actividad de drogas bien conocidas. El análogo de la atebrina, 2-fluoro-6-cloro-9-(δ -dietilamino- α -metil-butyl)-acridina (LIX, R: F), es tan activo como la atebrina (LIX, R = CH₃O) (248).



El correspondiente análogo de la plasmoguina también fué preparado pero todavía no ha sido ensayado (249). La introducción de un átomo de fluor en la posición meta de la adrenalona (LX) disminuye un poco la acción vasocompresora de ésta última, sin cambiarla (250). Los 2-alkil-p-fluoro fenoles son antihelmínticos tan activos como los o-alkil fenoles (251) y los dialquilaminoalquilésteres del ácido p-fluoro benzoico son anestésicos tan efectivos como los ésteres correspondientes del ácido benzoico mismo (252), son algo menos tóxicos pero tienen un efecto irritante en la piel. La introducción de un átomo de fluor en la posición 2 del bromuro de 9-amino-10-metil-acridinio aumenta sus propiedades antisépticas contra la E.coli (253) y la introducción del fluor en lugar del grupo amino aromático del sulfatiazol da un compuesto que tiene una actividad del mismo tipo pero 10 veces menor (255) (concentración mínima efectiva para E.coli: 1×10^{-3} en lugar de 1×10^{-4}). En todos esos casos se ha substituido el hidrógeno o los grupos oxhidrilos, metoxilos o aminos por el fluor. De manera análoga, en casos apropiados, el cloro puede ser reemplazado por el fluor sin afectar a la propiedad biológica específica del compuesto. Así el 1,1,1-tricloro-2,2-bis(p-fluorofenil)etano (LXI) es aún mas activo que el 1,1,1-trifluoro-2,2-bis(p-fluorofenil)etano (LXII) (254), lo que es comprensible si se tiene en cuenta que el modo de acción de los insecticidas (ver página 23) depende de la presencia del grupo CX₃ (X=halógeno).



El interés en las propiedades metabólicas, o mejor dicho anti-metabólicas, de los compuestos de fluor se despertó como consecuencia de la clásica observación sobre la influencia del fluoruro de sodio en el metabolismo de los hidratos de carbono. Se sabe ahora que el fluoruro de sodio inhibe la reacción en la que el ácido α -2-fosfoglicérico se convierte en el fosfato del ácido enolpirúvico:



la célula viva efectúa esta reacción por medio de una enzima, enolasa, y el FNa interfiere con esta enzima. Warburg y Christian (257) demostraron que el fluoruro forma un complejo fluoro-fosfato con el átomo de Mg o Mn que es parte de la molécula de la enolasa. Por lo tanto todas las reacciones que producen ácido pirúvico, por ejemplo la glucólisis, pueden ser inhibidas por el fluoruro de sodio y en muchas fermentaciones la adición de FNa causa la acumulación del ácido α -2-fosfoglicérico.

El conocimiento de la acción inhibitoria del fluoruro de sodio estimuló la búsqueda de otros compuestos del fluor biológicamente activos, con la esperanza que serán activos contra animales de orden inferior, como insectos, en vista de la actividad del NaF contra las bacterias. Así se inició la búsqueda de insecticidas que contienen fluor y fué llevada a cabo en su mayor parte en Alemania. Se ha encontrado que el sulfite y el carbonato del β -fluoro-etanol son insecticidas de contacto muy poderosos, pero son tóxicos también a los mamíferos. Lo mismo sucede con los acetales del β -fluoroetano y con ciertos uretanos derivados de él.

Todos estos compuestos son venenos sistemáticos, es decir, son absorbidos por la planta que ha sido tratada con ellos y transforman a la planta en venenosa por un período considerable de tiempo. La pulverización de la planta con estos compuestos afecta, por lo tanto, también a los insectos que viven en las raíces, como la filerera. El mecanismo de esta acción se conoce ya en la actualidad aunque los autores alemanes no lo han interpretado correctamente. El fluoroacetato es para la mayoría de los insectos un veneno sis-

temático y de contacto (259) y sin duda alguna la actividad de los compuestos alemanes se debe a su capacidad de convertirse en ácido fluoroacético. Se ha demostrado que en el caso de cerazón aislado y perfundido, que no puede convertir a los alcoholes en sus correspondientes ácidos, el β -fluoroetanol no es tóxico (260), mientras que en otras condiciones es tan tóxico como el fluoroacetato.

El descubrimiento de la toxicidad del ácido fluoroacético y la de algunos de sus derivados fué hecho en Alemania y Polonia (258) (261) (262). Marais (130) identificó al ácido fluoroacético con el principio tóxico de una planta Sud Africana (ver página 5), este descubrimiento tiene una gran importancia pues demostró ue el fluoroacetato puede existir en una planta sin interferir con su desarrollo normal. Varios trabajos han sido publicados sobre el uso de los derivados del ácido fluoroacético como insecticida (263). Sus propiedades toxicológicas y farmacológicas fueron recopiladas y discutidas por Chenoweth (130) y recientemente por Pattison (265)

El mecanismo de la acción venenosa del ácido monofluoroacético ha sido adecuadamente elucidado (266) (277). Se debe subrayar que el efecto del ácido fluoroacético no es análogo al de los ácidos cloro-, bromo- o yodo acéticos "lacrimatorios". Se conoce que estos ácidos actúan por combinación con los grupos mercaptídicos de ciertas enzimas que necesitan estos grupos intactos para efectuar sus funciones específicas. Debido a la alta estabilidad de la ligadura C-F, los fluoroacetatos no son capaces de reacciones análogas.

Dos teorías han sido propuestas para la explicación de mecanismo del envenenamiento con el fluoroacetato. Ambas se basan en la suposición que la semejanza entre el fluoroacetato y el acetato lo posibilita a interferir (y aquí debemos subrayar la similitud en el tamaño entre el fluor y el hidrógeno) en las transformaciones que sufre el acetato. Barrau y colaboradores (268) piensan que el fluoroacetato es un inhibidor competitivo del metabolismo del acetato, es decir, se ponen que el fluoroacetato compite con el acetato en la reacción de ésta con el grupo mercaptido de la coenzima A (la reacción con el grupo SH no implica la unión C-F). Peters (269) y Martius (27), en cambio, llegaron a otra conclusión: el fluoroacetato inhibe la enzima aconitasa (290). A partir de preparaciones envenenadas con fluoroacetato, Peters (271) (291) pudo aislar ácido monofluorecítico y demostró (282) que este compuesto sintetizado enzimáticamente es idéntico con el ácido fluorocítrico sinté-

ties obtenido por Rivett (272).

Los ejemplos citados demuestran que el conocimiento de la propiedades fundamentales del átomo de fluor, tal como han sido revelados por los métodos de la física moderna, principalmente las observaciones correspondientes a su tamaño y polaridad nos permiten efectuar una explicación más adecuada de las propiedades biológicas de los compuestos orgánicos del fluor.

- - - - -

PART EXPERIMENTAL

Capítulo 6

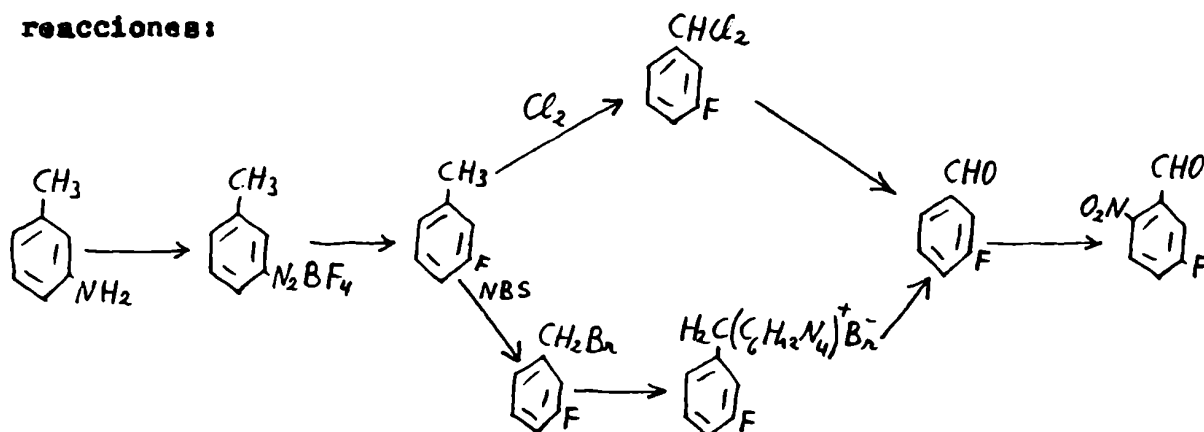
Las β - 6 - NITRO - 3 - FLUORO FENILSERINAS

Hemos visto en el capítulo 5 la influencia del fluor en las propiedades biológicas de los compuestos orgánicos y la posibilidad de su explicación en base de las propiedades fundamentales del átomo de fluor. También hemos citado que los metabolitos esenciales pueden ser transformados en antimetabolitos por la introducción de un átomo de fluor en adecuadas posiciones de la molécula y que algunas de las observaciones más interesantes de la biología de los compuestos orgánicos del fluor han sido hechas en la serie de los aminoácidos aromáticos (o-, m-, y p-fluoro-fenilalanina, 2-fluoro-tirosina, 3-fluor tirosina y 5-fluoro-triptofano).

En vista que la treo- β -fenilserina y la treo- β -p-nitro-fenilserina son compuestos intermediarios importantes en la síntesis de la cloromicetina y que presentan actividad antibiótica hacia la Escherichia coli, (147), nos pareció interesante sintetizar un análogo de la fenilserina que contenga fluor para determinar sus propiedades químicas y biológicas. Con ese propósito hemos sintetizado el aldehído 6-nitro -3-fluoro-benzoico y después efectuado la condensación del mismo con el éster etílico de la glicina obteniéndose los ésteres de las β -6-nitro-3-fluoro-fenilserinas isoméricas.

Síntesis del aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico:

Hemos obtenido este compuesto por la siguiente serie de reacciones:



El m-fluoro tolueno fué preparado a partir de la m-toluidina por la reacción de Schiemann (233) según la técnica de Shirley (181) . El

aldehido m-fluoro benzoico fué obtenido introduciendo bromo en el m-fluorotolueno por medio de la N-bromo succinimida y oxidando al producto resultante con hexamina (reacción de Sommelet), pero durante la bromación con la N-bromo succinimida obscurecimiento de la mezcla de reacción y formación de bromo libre fué observado y solo se obtuvo el 50% de la cantidad teórica del bromuro de m-fluoro bencilo. Otro método fué probado con un resultado mejor (cloración con cloro seco e hidrólisis con una suspensión de carbonato de calcio en agua).

Davey y Gwilt (183) hallaron en 1950 que en la nitración del diacetato de bencilideno la reacción violenta entre el anhídrido acético, el ácido sulfúrico y el aldehido benzoico puede ser casi enteramente evitado si se agrega la solución de aldehido benzoico en anhídrido acético a una mezcla enfriada de anhídrido acético y ácido sulfurico. La reacción produjo alrededor de 40% de aldehido o-nitro benzoico y 60% de aldehido p-nitro benzoico con menos de 1% del isómero meta. Con este procedimiento hemos efectuado la nitración del aldehido m-fluoro benzoico, pero sorpresivamente, solo hemos aislado el derivado que contiene el grupo nitro en posición orto respecto al grupo carboxilo (85% de rendimiento). El compuesto fué caracterizado por sus derivados : 2,4-dinitro fenilhidrazona y semicarbazona.

Este resultado está de acuerdo con el hecho que la nitración de los aldehidos 3-cloro-, y 3-bromo benzoicos producen a los aldehidos 5-cloro-2-nitro y 5-bromo-2-nitro benzoicos respectivamente (227)(228)

La posición del grupo nitro fué determinada de la siguiente manera : El espectro de absorción en el infrarrojo (examinado en una solución clorofórmica de 0.08 g/ml, célula de 0.1 mm (intervalo C-H=O) presenta bandas en 2755 cm^{-1} ($E=1$) y en 2650 cm^{-1} ($E=10$) (figura 4). Pinchas (184) halló que el aldehido o-nitro benzoico en una solución de Cl_4 tiene una banda de absorción en 2760 cm^{-1} medido con un prisma de LiF de alta resolución. Usando un prisma de NaCl esta banda aparece aproximadamente en 2770 cm^{-1} y también aparece una segunda banda en 2650 cm^{-1} . Los aldehido benzoicos que no contienen grupos nitro, cloro, alcoxi, etc. situados en la posición orto al grupo formilo (185) absorben en 2720 cm^{-1} aproximadamente. Esta claro, por lo tanto, que el grupo nitro en el aldehido benzoico está situado en la posición orto.

Para poder obtener un criterio mas conclusivo respecto a la posición del grupo nitro, hemos preparado de una manera análoga a los

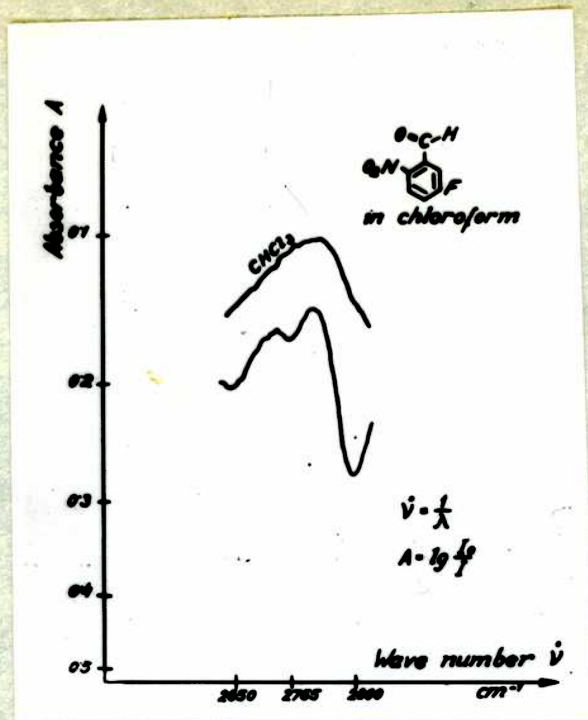


Figura 4

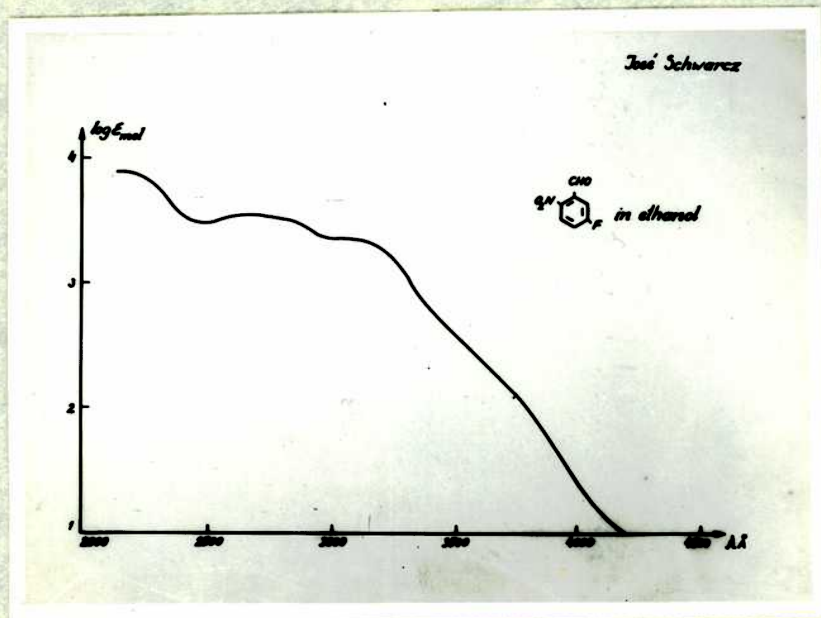


Figura 5

aldehidos 4-nitro-3-fluoro y 6-nitro-3-fluoro benzoicos pero a partir del 4-nitro-3-fluoro toluol y 6-nitro-3-fluoro toluol respectivamente, por oxidación con CrO_3 e hidrólisis subsiguiente con ácido clorhídrico acuoso.

El 6-nitro-3-fluoro toluol y el 4-nitro-3-fluoro toluol fueron preparados por nitración del *m*-fluoro toluol y separación de los isómeros por destilación al vacío en una columna de aprox. 34 platos. Sus estructuras fueron determinados por Schiemann en 1929.

La nitración del *m*-fluoro toluol fué efectuada siguiendo a Schiemann (182) pero a la temperatura de -60° en vez de -15° para poder obtener una mayor proporción del derivado *para*-nitro . El 20% del producto de nitración obtenido fué 4-nitro-3-fluoro toluol (Schiemann a la temperatura de -15° obtuvo 7.5%) y el 75% fué 6-nitro-3-fluoro toluol.

El espectro de absorción en el ultravioleta del 6-nitro-3-fluoro toluol (figura 6) (mínimo = 2370 A y máximo a 2610 A) y del 4-nitro-3-fluoro toluol (figura 7) (mínimo = 2330 A y máximo=2650 A) son muy semejantes entre sí pero las diferencias entre ellos son suficientemente grandes como para permitir la identificación de una muestra desconocida de una de las sustancias.

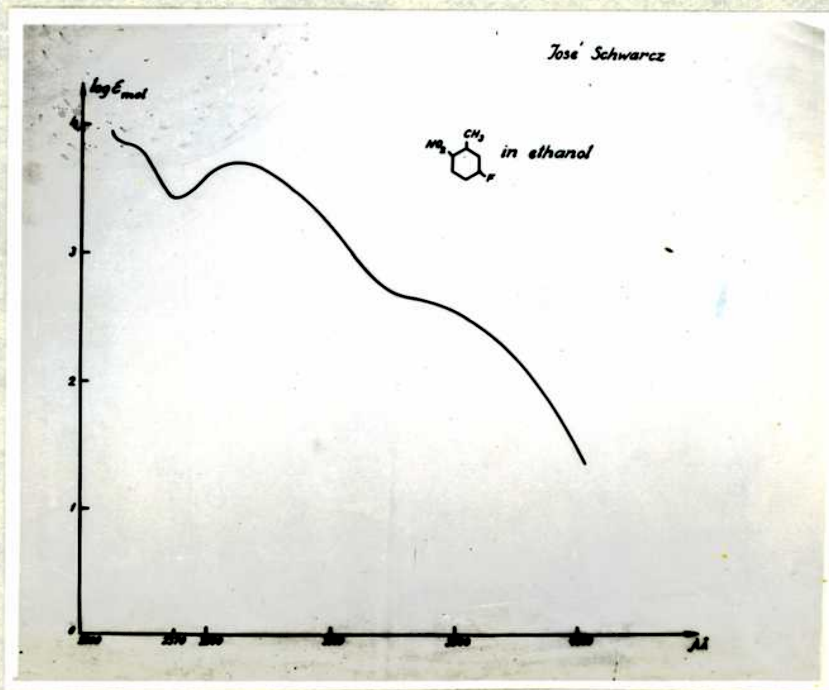


Figura 6

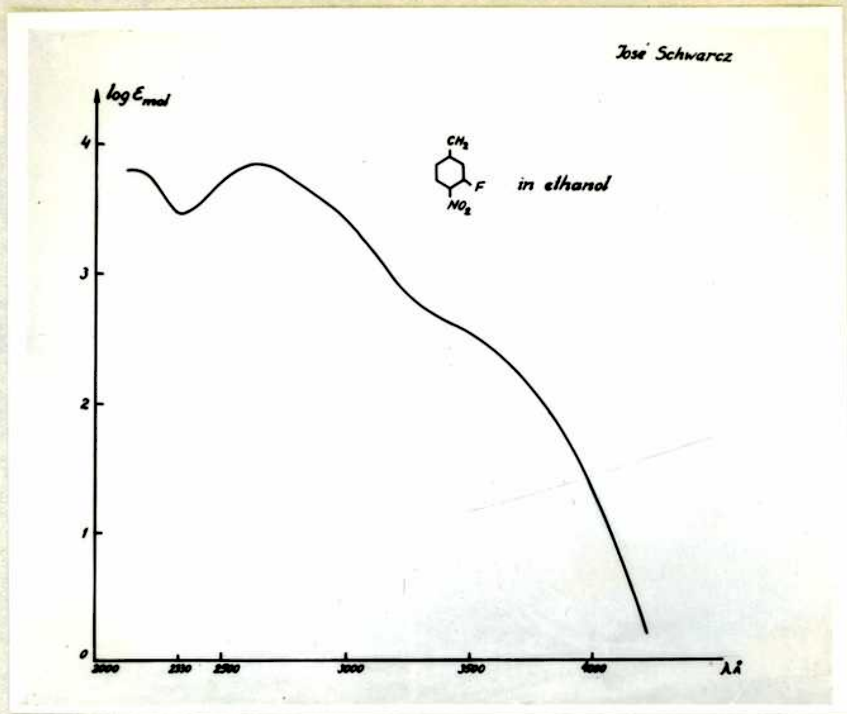
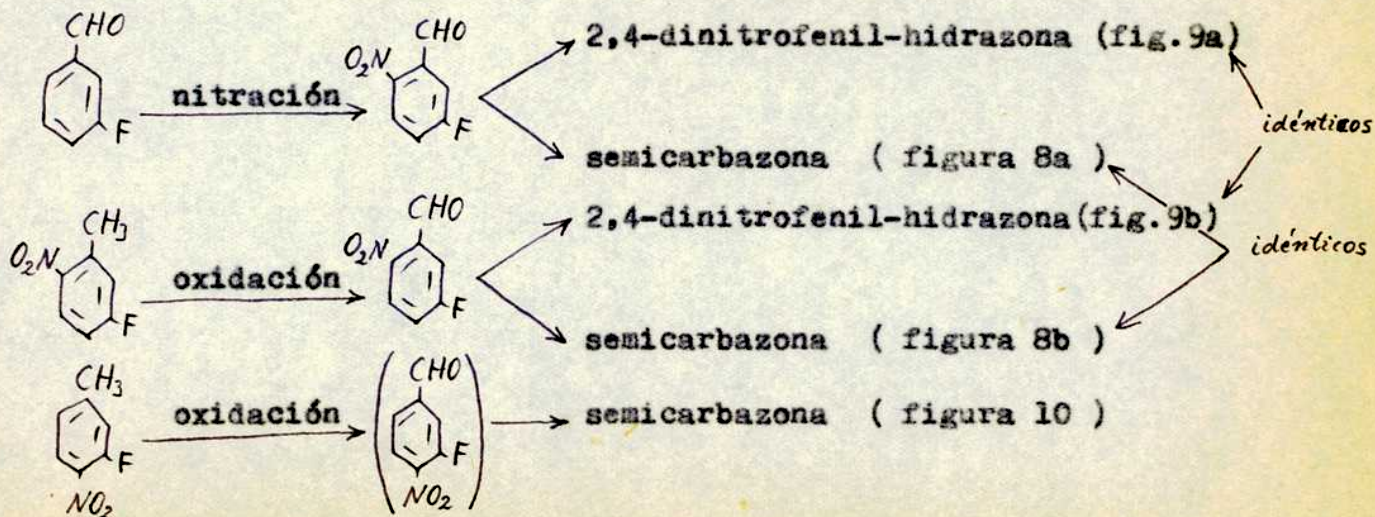
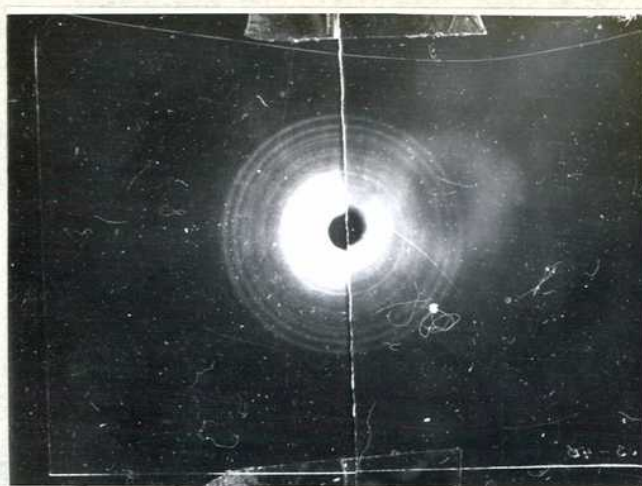


Figura 7

La oxidación del 6-nitro-3-fluorotolueno conduce al aldehído 6-nitro-3-fluorobenzoico. De la comparación del diagrama de rayos X de la semicarbazona y de las 2,4-dinitrofenil hidrazona pulverizada de estos aldehídos, con los diagramas de los aldehídos obtenidos por nitración del aldehído *m*-fluorobenzoico, se deduce que el aldehído arriba citado es el aldehído 6-nitro-3-fluorobenzoico.





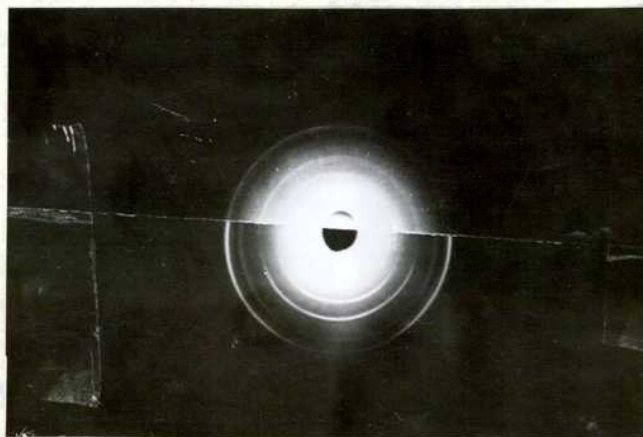
a

b

Figura 8

Figura 8a : Diagrama de rayos X de la semicarbazona del aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico pulverizada, obtenida por nitración.

Figura 8b : Diagrama de rayos X de la semicarbazona del aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico pulverizada, obtenida por oxidación.



a

b

Figura 9

Figura 9a: Diagrama de rayos X de la 2,4-dinitrofenil hidrazona del aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico pulverizada, obtenida por nitración.

Figura 9b : Diagrama de rayos X de la 2,4-dinitrofenil hidrazona del aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico pulverizada, obtenida por oxidación.

La oxidación del 4-nitro-3-fluoro toluol con CrO_3 conduce al ácido 4-nitro-3-fluoro benzoico. Sin embargo, una pequeña cantidad del aldehído 4-nitro-3-fluoro benzoico ha sido aislada de la mezcla reactante en forma de derivado de semicarbazona. El diagrama de rayos X de esta semicarbazona pulverizada (figura 10) no es similar con ninguna de las sustancias arriba citadas:

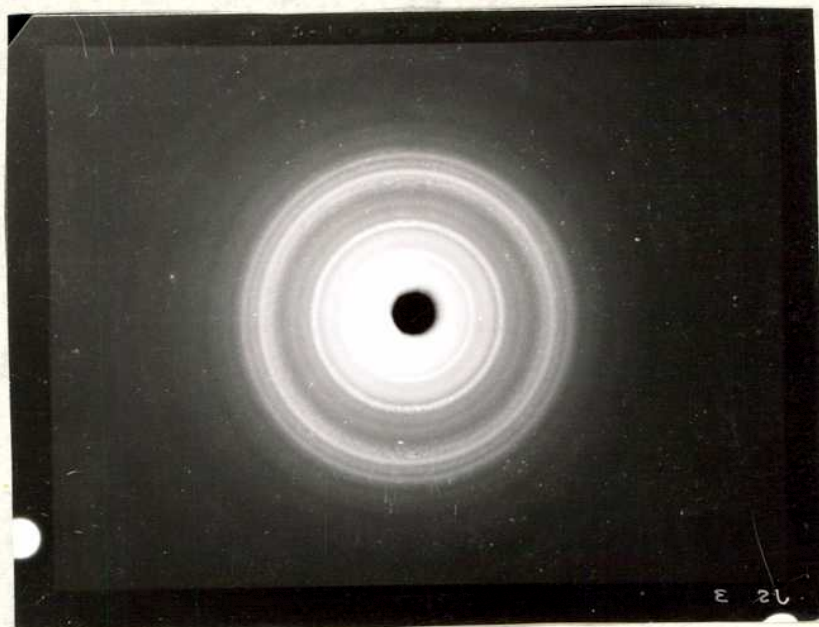
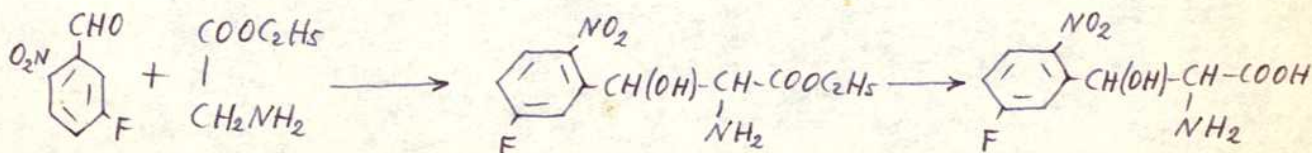


Figura 10

Figura 10 : Diagrama de rayos X de la semicarbazona del aldehído 4-nitro-3-fluoro benzoico pulverizado, obtenida por oxidación.

β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinas :

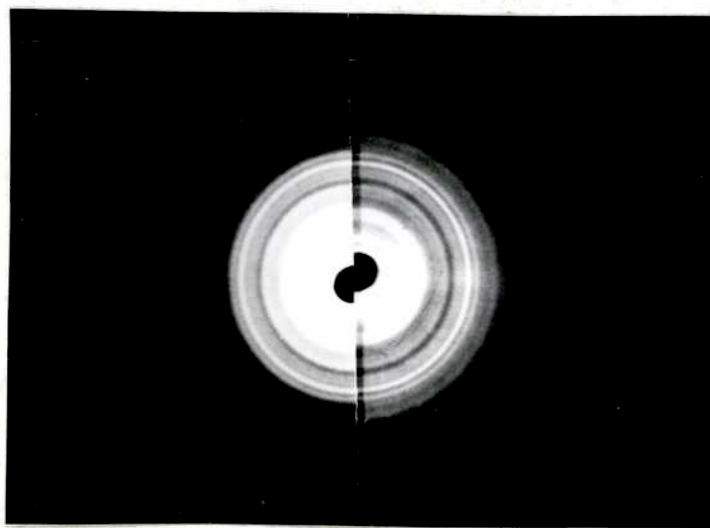
Para obtener a los dos isómeros de la β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serina hemos efectuado la condensación del aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico con el éster etílico de la glicina y hemos hidrolizado al éster del aminoácido resultante :



Las condensaciones fueron llevadas a cabo de las tres siguientes maneras :

- 1) Condensación de Bergmann en metanol a la temperatura ambiente sin catalizador (relación molar entre aldehído y éster 2:1).
- 2) Condensación azeotrópica de Bergmann en benceno hirviente (relación molar entre aldehído y éster 1;1).
- 3) Condensación sin solvente (relación molar entre aldehído y éster 1 : 1).

Los clorhidratos de los tres β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinatos de etilo resultantes fueron preparados y los diagramas de rayos X de las tres sales pulverizadas fueron comparados. De la comparación resulta (figura 11) que los diagramas de rayos X de las substancias obtenidas en las condensaciones metanólicas y azeotrópicas de Bergmann son idénticos entre sí y diferentes del diagrama obtenido por el tercer método (sin solvente).



a

b

Figura 11

Figura 11a : Diagrama de rayos X del clorhidrato del eritro- β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinato de etilo pulverizado, obtenido por condensación azeotrópica.

Figura 11b : Diagrama de rayos X del clorhidrato del eritro- β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinato de etilo pulverizado, obtenido por condensación metanólica.

Por lo tanto, de acuerdo con las consideraciones expuestas en el capítulo 4, hemos asignado la configuración estereoquímica eritro

a los productos obtenidos en las condensaciones metanólicas y azeotrópicas de Bergmann y la configuración treo al producto obtenido en la condensación sin solvente.

La saponificación de los clorhidratos de los ésteres etílicos de la treo-, y eritro- β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serina fué hecha con 2 moles equivalentes de NaOH normal a la temperatura ambiente (156) (165).

Estudios biológicos (para detalles experimentales véase página 119)

Han sido determinadas las actividades biológicas in vitro de la dl-treo- β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serina y de la dl-eritro- β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serina hacia una cepa avirulenta de Pasteurella pestis y hacia Escherichia coli.

Las actividades de los dos compuestos isoméricos (treo y eritro) son muy débiles hacia la Pasteurella pestis (menos de 50 δ /ml no causa retardo en el crecimiento durante 7 días). El isómero treo tiene una actividad ligeramente mayor que el isómero eritro.

Los dos estereoisómeros son inactivos contra la Escherichia coli en las condiciones experimentales descritas en la página .

Según Billet (147) la treo- β -fenilserina y la treo- β -p-nitro-fenilserina y la d-serina (284) presentan actividad antibiótica contra la Escherichia coli. No se encuentran en la literatura informaciones sobre ensayos biológicos con la o-nitro fenilserina. Los análogos orto-nitro y meta-nitro de la cloramitina (ver tabla 1) no tienen actividad biológica (60).

- - - - -

Capítulo 7

ESTEROS DERIVADOS DE LAS β -FENILSERINAS

En el capítulo 4 hemos descripto a los distintos métodos de condensación para la obtención de las β -fenilserinas substituidas y hemos visto la importancia que tienen estos intermediarios en la síntesis de la cloromicetina. También hemos descripto el mecanismo posible de la reacción de condensación de Bergmann y de las reacciones de conversión bastante complicadas que existen entre los ésteres de las dos β -p-nitro-fenilserinas isoméricas.

El objeto de los experimentos que hemos llevado a cabo fué la investigación de las condiciones de aplicabilidad de las reacciones de condensación de los aldehidos aromáticos con los aminoácidos (o sus ésteres o sales) y la influencia de las condiciones experimentales en que se realiza la condensación sobre la configuración estérica de las fenilserinas substituidas obtenidas. También se ha estudiado la influencia de la trietilamina en la condensación metanólica y azeotrópica de de Bergmann y el uso del hidróxido de magnesio, en lugar del hidróxido de calcio, en la condensación de Ehrhart.

Reacción de condensación de Bergmann : (condensación de los aldehidos aromáticos con los ésteres de los aminoácidos en solución metanólica sin catalizador a la temperatura ambiente)

Con este método Bergmann y sus colaboradores (26)(101)(149)(154)(156) efectuaron la condensación del glicinato de etilo con los siguientes aldehidos : (tablas 3 y 4)

- 4-nitro benzoico (XIa)
- 3-nitro benzoico (XVIII)
- 2-nitro benzoico (XIX)
- 0-carbetoxi-p-fenoxi benzoico (X)
- 4-hidroxi benzoico (VIIIa)
- 5-nitro furfúrico (XXVII)
- tioanísico (XXXIII)
- 4-metilsulfonil benzoico (XXXII)
- 4-(8-nitro)-quinolínico (XXXIV)

la condensación del glicinato de metilo (149)(154) con los aldehidos:

- benzoico
- 4-nitro benzoico
- 3-nitro benzoico
- 2,6-dicloro benzoico (XXX)
- 4-ciano benzoico (XXa)
- 4-metil-3-nitro benzoico (XXII)

y la condensación del glicinato de bencilo (154) con el aldehído p-cloro benzoico (XXIIIa).

Los ésteres metílicos de la alanina y de la l-alanina ópticamente activa reaccionaron con los aldehídos p-nitro y meta-nitro benzoicos pero no dieron reacción de condensación con los aldehídos benzoico y anísico.

Los siguientes aldehídos no pudieron ser inducidos a reacciones con el glicinato de etilo:

4-dimetilamino benzoico
2,4-dinitro benzoico
4-benciloxi benzoico
3-nitro-4-hidroxi benzoico
anísico
2-tiofénico

Los ésteres de la β -fenilalanina, ácido glutámico, ácido aspártico, sarcosina, NN-dimetilglicina y de la O-bencilserina no reaccionan con el aldehído p-nitro benzoico (sin la influencia de la luz ultravioleta).

Como resultado de nuestros experimentos, la lista precedente puede incluir a los siguientes compuestos:

Los aldehídos 6-nitro-3-fluoro benzoico, o-nitro benzoico y p-ciano benzoico (2 moles) se condensan fácilmente con el glicinato de etilo (1 mol) en solución de metanol a la temperatura ambiente pero en estas condiciones experimentales los ésteres etílicos del ácido dl- α -amino-fenilacético, (γ -fenil-acetamido)-crotónico (LXXIV), dl-norvalina y de la 2(5H)-pirrolona (LXXIII) no reaccionan con el aldehído p-nitro benzoico.

Nuestros intentos para efectuar la condensación de los aldehídos 2-cloro-4-nitro benzoico, 2-piridínico y 4-piridínico con el glicinato de etilo con el método precedente no dieron resultados positivos.

Memos visto (página 38) que la primera etapa en la reacción de condensación de Bergmann es la formación de una base de Schiff:



en este compuesto, el grupo metilénico se halla activado por las dos dobles ligaduras vecinas (157) y produce reacción de aldolización con una segunda molécula de aldehído. Esta hipótesis tiene apoyo en la observación que ni el sarcosinato de metilo ni el NN-dimetil glicinato de metilo se condensan con el aldehído p-nitro benzoico en metanol. Holland y Mayler (154)(159) demostraron que la reacción del aldehído p-nitro benzoico con el glicinato de etilo puede ser interrumpida en la etapa de la base de Schiff (N-p-nitrobenciliden-glicinato de etilo).

En nuestros experimentos con la condensación del C-fenil glicinato de etilo con el aldehido p-nitro benzoico hemos obtenido una base de Schiff (LXX):

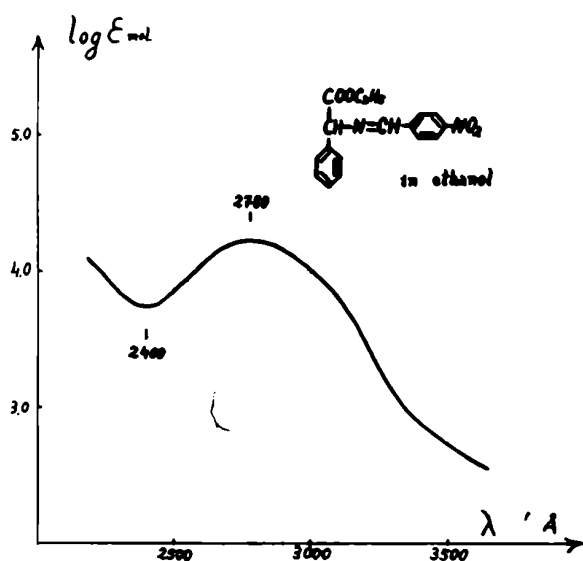
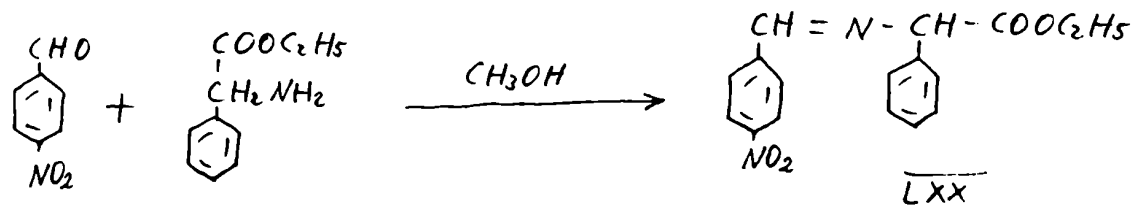


Figura 12

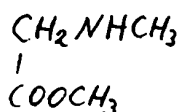
El espectro de absorción en el ultravioleta (figura 12) del compuesto LXX muestra un máximo en 2780 Å ($\log \epsilon_m = 4.22$) y un mínimo en 2400 Å ($\log \epsilon_m = 3.74$). Podemos suponer, por lo tanto, de acuerdo con las observaciones de Bergmann, Hirschberg, Pinchas y Zimkin (202), que el compuesto LXX tiene estructura de base de Schiff. Tratado con HCl en metanol, el compuesto LXX se descompone dando aldehido p-nitro benzoico y el clorhidrato de α -amino fenilacetato de etilo, confirmándose así su estructura química. La reacción de aldolización no se produce en este caso debido probablemente al impedimento estérico. La sislación de la base de Schiff es, por lo tanto, una prueba en favor del mecanismo de reacción arriba citado.

El N-(o-nitrobenzilideno)- β -(o-nitrofenil)-serinato de etilo

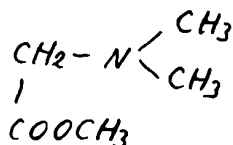
preparado con éste método de condensación tiene un punto de fusión de 121^o y no 160^o como lo informaron Bergmann et al. (149). El punto de fusión del correspondiente clorhidrato del β-g-nitro-fenilserinato de etilo fué 164^o (desc.) y no 141^o como se informó en el lugar citado.

Reacción de condensación fotoquímica de Bergmann :

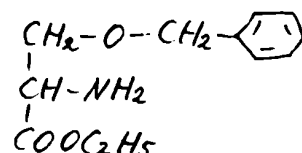
La segunda etapa (aldolización) en la reacción de condensación metanólica de Bergmann puede producirse si el grupo metileno en los ésteres de los aminoácidos se halla activado por las dos dobles ligaduras vecinas. De acuerdo con esta afirmación hemos visto que en los compuestos en los cuales no es posible la formación de la base de Schiff (sarcosinato de metilo (LXXX), N,N-dimetil glicinato de metilo (LXXXI) y O-bencil serinato de etilo (LXXXII)) no se produce reacción de condensación.



LXXX



LXXXI

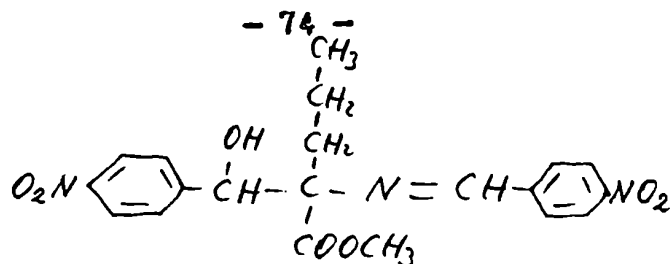


LXXXII

La inactividad relativa del grupo amino en el compuesto LXXXII puesta en relieve por su incapacidad de condensarse con los aldehidos aromáticos, se debe probablemente a la ligadura de hidrógeno con la cual se halla unida al átomo de oxígeno del grupo éster (154).

Es interesante, por lo tanto, el descubrimiento de Bergmann (154)(157) que es posible incrementar la actividad del grupo metileno en los ésteres α-amino, por irradiación, hasta un estado tal que la presencia de la ligadura de azometino resulte superflua para la condensación aldólica de los aldehidos aromáticos. Se consiguió la condensación aldólica de los tres ésteres de los aminoácidos citados con el aldehido p-nitro benzoico en solución metanólica, exponiendo la mezcla reactante a la acción de los rayos solares.

Nuestros intentos para efectuar la condensación de los ésteres metílicos de la norvalina y de la norleucina (1 mol) con el aldehido p-nitro benzoico (2 moles) en solución metanólica no dieron resultado ni a la temperatura ambiente ni a reflujo. Sin embargo, exponiendo la mezcla a la acción de los rayos solares durante dos semanas, lentamente se produjo la condensación. En el caso del norvalinato de metilo, después de la evaporación del solvente de la mezcla reactante, quedó un aceite oscuro del cual el eritro-α, α(p-nitrobencilidenoamino)(p-nitro-1-hidroxi-bencil)-valerato de metilo (LXXXIII) sólido fué aislado.



LXXXIII

Consideramos que el compuesto LXXXIII tiene la configuración eritro por analogía con otras reacciones de condensación (página 46). En el caso del norleucinato de metilo no hemos podido purificar suficientemente la sustancia resultante para poder determinar su estructura.

Reacción de condensación azeotrópica de Bergmann :

Bergman (154) y Hesnick (101) efectuaron la condensación de los aldehidos *p*-nitro, *m*-nitro, *p*-cloro, 2,6-dicloro, 4-metil-3-nitro benzoicos, 5-nitro furfúrico y 4-quinolínico con el éster de la glicina por medio de la destilación azeotrópica en benceno hirviente. (En el caso del aldehido *p*-cloro benzoico se produjo la deshidratación del producto resultante y formación de una doble ligadura).

Nosotros hemos efectuado la condensación azeotrópica del aldehido 6-nitro-3-fluoro benzoico con el glicinato de etilo y hemos demostrado la identidad del eritro - β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinato de etilo resultante, con el producto obtenido en la condensación metálica, por medio de los diagramas de rayos X de las sustancias pulverizadas (ver capítulo 6).

La condensación azeotrópica del aldehido *p*-ciano benzoico y glicinato de etilo en benceno hirviente dió un producto muy impuro, cuyo punto de fusión subió, después de dos recristalizaciones de 100° a 166°-171°. Probablemente fué una mezcla del compuesto eritro con el clorhidrato del glicinato de etilo.

Nuestros intentos para efectuar la condensación azeotrópica del aldehido 2-cloro-4-nitro benzoico con el glicinato de etilo resultaron infructuosos.

La influencia de la trietilamina :

Holland, Jenkins y Mayler (148) usaron trietilamina como catalizador en la condensación del aldehido *p*-nitro benzoico con el glicinato de etilo en alcohol etílico. El β -(*p*-nitro-fenil)-serinato de etilo resultante tiene configuración eritro.

En nuestros experimentos, la condensación del aldehído *p*-nitro benzoico (2 moles) con el glicinato de etilo (1 mol) en metanol con o sin trietilamina (0.1 mol) dió el mismo producto: eritro- β -(*p*-nitrobenzilideno)-*p*-nitrofenilserinato de etilo. Análogamente, la condensación azeotrópica del aldehído *m*-nitro benzoico (2 moles) con el glicinato de etilo (1mol) con o sin trietilamina (0.1 mol) dió el mismo clorhidrato del *p*-nitrofenilserinato de etilo.

Nuestros ensayos para efectuar la condensación del aldehído *p*-nitro benzoico con el (γ -fenilacetamido)-crotonato de etilo y con la 2(5H)-pirrolona en solución de metanol con trietilamina dieron resultado negativo.

Condensaciones sin solvente :

Elphimoff-Felkin, Felkin y Welvart (160) efectuaron la condensación del aldehído *p*-nitro benzoico con el glicinato de etilo sin solvente a la temperatura ambiente, el β -(*p*-nitro-fenil)-serinato de etilo resultante tiene configuración treo.

Con este método hemos logrado efectuar la condensación del aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico y *p*-ciano benzoico con el glicinato de etilo. Los productos obtenidos resultaron ser diferentes de los productos obtenidos en las condensaciones metanólicas y azeotrópicas de Bergmann y suponemos por lo tanto que tienen configuración estereoquímica treo. Sin embargo, pequeñas cantidades de la substancia de configuración eritro se han producido también y viceversa, se halló una pequeña cantidad de la forma treo en las aguas madres de cristalización de la base de Schiff, de configuración eritro. De acuerdo con lo previsto por causa de la similitud existente entre el grupo NO₂ y el grupo CN (Bergmann y Pinchas. (179)), el aldehído *p*-ciano benzoico se comporta de manera parecida al aldehído *p*-nitro benzoico también en ese caso.

En la condensación del aldehído *o*-nitro benzoico con un exceso de glicinato de etilo sin solvente solo obtuvimos una cantidad muy pequeña, insuficiente para análisis, del producto de condensación. Sorpresivamente, las aguas madres de esa substancia al ser tratadas con solución alcohólica concentrada de HCl dieron el mismo clorhidrato de β -(*o*-nitro-fenil)-serinato de etilo que se obtuvo por el método de Bergmann en metanol.

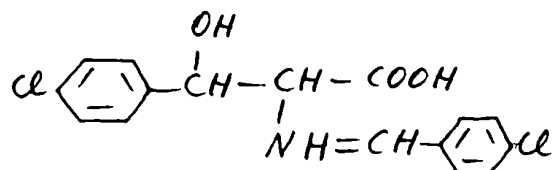
Nuestros intentos para efectuar la condensación de los aldehidos m-nitro, p-cloro, o-hidroxi, 2-benciloxi-5-cloro, 2,4-dicloro, 3,4-dicloro, 2-cloro-4-nitro benzoicos, 2-piridinico y 4-piridinico con un exceso de glicinato de etilo dieron resultados negativos. El aldehido 2-hidroxi-5-cloro benzoico dió un precipitado de N-(2-hidroxi-5-cloro-benciliden)-glicinato de etilo.

Una conclusión interesante de esos resultados experimentales es que la situación particular que prevalece en el caso del aldehido p-nitro benzoico (es decir: que en la condensación sin solvente y en la de Bergmann se producen estereoisómeros treo y eritro respectivamente) tiene paralelo solamente con los aldehidos 6-nitro-3-fluoro benzoico, p-ciano benzoico y p-metil sulfonil benzoico (26), es decir con los aldehidos que llevan en la posición para substituyentes fuertemente orientadores en meta. Se podría esperar por lo tanto que también a partir del aldehido p-carboxi benzoico es posible obtener las dos fenilserinas diestereoméricas. Estos aldehidos muestran también una gran reactividad en las reacciones de condensación de tipo Perkin (180) pero la conexión entre los dos fenómenos no está determinada todavía.

Reacciones de condensación con hidróxido de potasio en alcohol absoluto:

Ya hemos enumerado (página 45) a los aldehidos que pueden dar reacción con esta variación del clásico método de condensación de Erlengmayer y hemos visto como Bolhofer (170) (171) ha demostrado la configuración estérica de los productos resultantes.

Con éste procedimiento hemos efectuado la condensación del aldehido o-bencil-5-cloro salicílico y p-cloro benzoico con la glicina. El aldehido o-bencil-5-cloro salicílico se condensa fácilmente con rendimiento casi cuantitativo con el glicinato de potasio en etanol absoluto pero la condensación del aldehido p-cloro benzoico con el glicinato de potasio en las mismas condiciones conduce solamente a una cantidad pequeña de N-(p-clorobencilideno)- β -(p-clorofenil)-serina (XXIIIC) :



XXIIIC

Nuestros intentos para efectuar la condensación del glicinato de potasio en alcohol absoluto con los aldehidos *p*-nitro, *m*-nitro, 2,4-dicloro, 3,4-dicloro benzoicos y anísico dieron resultados negativos.

Es significativo el hecho que los aldehidos benzoicos sustituidos que más fácilmente dan reacciones de condensación con este método son los que tienen un grupo oxibencilo. Estos aldehidos en cambio no dan reacción con los métodos de condensación de Bergmann.

De acuerdo con los resultados de Bolhofer (página 3245) podemos suponer que los productos obtenidos con este procedimiento (la β -(3-cloro-6-benciloxifenil)-serina y la *N*-(*p*-clorobencilideno)- β -(*p*-clorofenil)-serina pertenecen a la serie treo.

Reacción de condensación de Ehrhart :

Hemos visto (página 40) que Ehrhart (173) usó hidróxido de calcio como catalizador en la reacción de condensación del aldehido *p*-nitro benzoico con la glicina en etanol diluido y demostró que el producto de condensación resultante pertenece a la serie treo.

Nuestros ensayos para efectuar la condensación de la glicina con el aldehido *p*-metil benzoico y con el aldehido anísico con este procedimiento dieron resultados negativos.

El uso del hidróxido de magnesio en lugar del hidróxido de calcio demostró que el aldehido *p*-nitro benzoico se condensa con la glicina también con este catalizador. Por analogía, hemos asignado la configuración treo al producto resultante. Ensayos para efectuar la condensación del aldehido *m*-nitro benzoico y *p*-cloro benzoico con la glicina en etanol acuoso e hidróxido de magnesio como catalizador dieron resultado negativo.

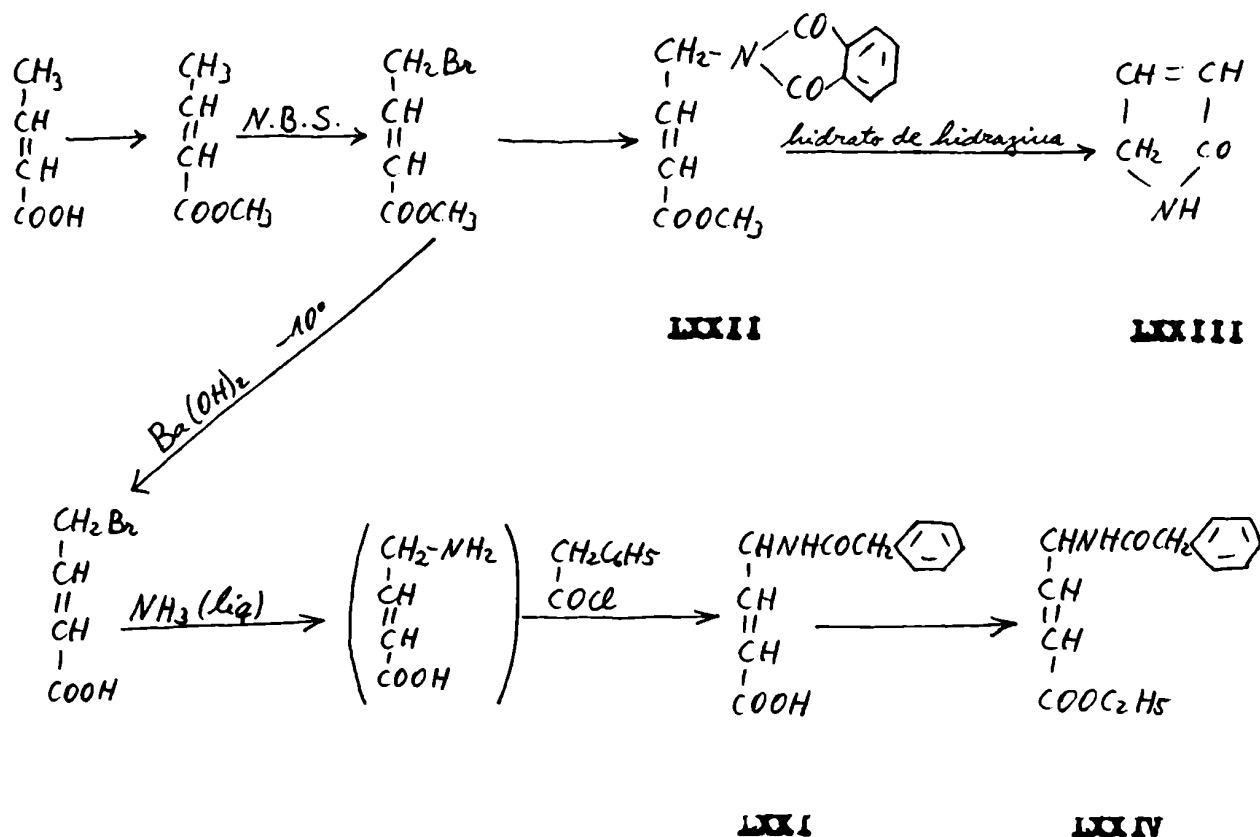
Condensaciones con el β -nitroetanol :

Hemos hecho experimentos para efectuar la condensación del β -nitroetanol con el aldehido benzoico y otros benzaldehidos substituidos según Controulis et al. (7)(189).

Al agregar una solución de sodio (1.3g) en metanol (14 ml) a una solución de β -nitroetanol (5.5g) y aldehido benzoico (6g) en metanol (23 ml) hemos obtenido un precipitado que por acidificación dió un aceite el cual se descompuso por destilación al vacío (0.3 mm). Tampoco hemos obtenido el nitrodiol libre al efectuar la acidificación de los productos de condensación de los aldehidos *p*-nitro benzoico y ~~*p*-cloro~~ *p*-cloro benzoico con el β -nitroetanol en las mismas condiciones descritas. El tratamiento de la sal sódica con anhídrido acético no produjo ningún producto definido.

Los datos que mencionaremos a continuación pertenecen a los experimentos mencionados en este capítulo:

El (γ -fenilacetamido)-crotonato de etilo (LXXIV) y la 2(5H) pirrolona (LXXIII) fueron obtenidas de la siguiente manera:



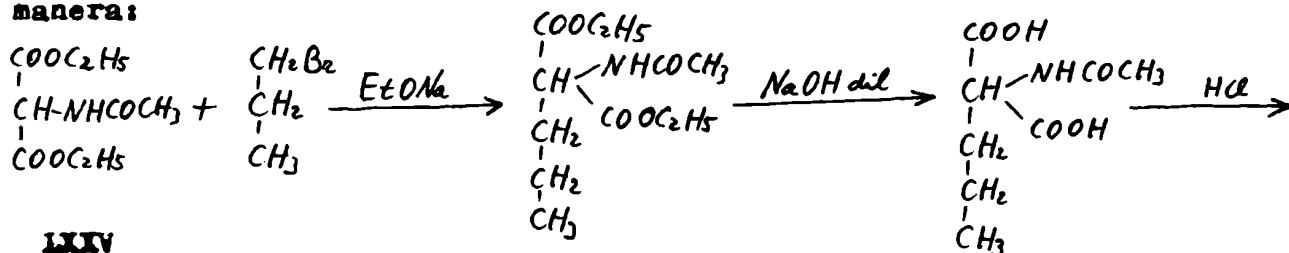
La bromación del crotonato de metilo fué efectuado por medio de la N-bromosuccinimida según Ziegler (190) pero haciendo uso del catalizador peróxido de dibenzoilo (191). La condensación de Gabriel del (γ -bromo)-crotonato de metilo con la ftalimida potásica fué hecha por Langenbeck y Boser (192) en solvente de éter isoamílico. Nosotros hemos aplicado a esta reacción el procedimiento modificado de Sheehan y Bolhofer (193) (con dimetilformamida) y hemos obtenido un rendimiento mayor (67 %). La descomposición del grupo N-ftalilo fué hecha con hidrato de hidrazina (192), nuestros intentos de efectuar la descomposición con fenilhidrazina siguiendo a Schumann y Boissonnas (194) no tuvieron éxito.

El ácido γ -bromocrotónico fué preparado por la hidrólisis de su éster con hidróxido de bario a temperatura baja y después fué convertido en el ácido γ -amino-crotónico con amoníaco líquido según Todd y Teich (195). Este aminoácido no fué aislado sino fué fenilacetilado directamente con el método de Schotten Baumann en el compuesto LXXI.

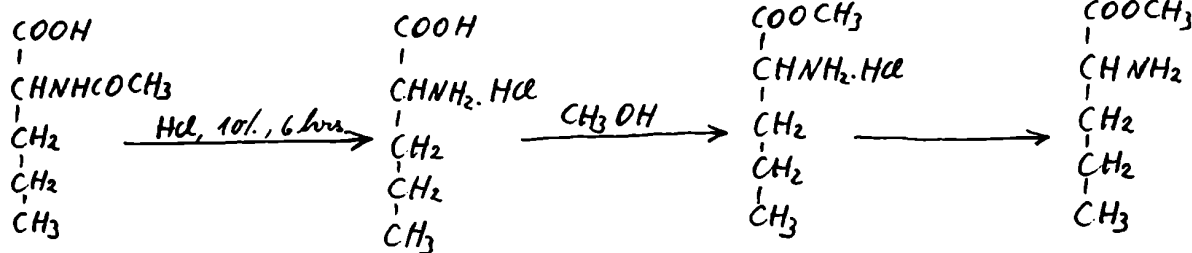
En la recristalización del producto fenilacetilado crudo con ácido acético y agua apareció un compuesto blanco, cristalino, de punto de fusión 70°. Fue recristalizado en una mezcla de ciclohexano y alcohol isobutílico obteniéndose ácido (γ -fenilacetamido)-crotonico (LXXI) de punto de fusión 155°. La sustancia de punto de fusión 70° (probablemente un hidrato del compuesto LXXI) no fue objeto de estudios posteriores. La esterificación del LXXI fue hecha con cloruro de acetilo en alcohol absoluto a la temperatura ambiente. Intentos para obtener el ácido γ -amino crotonico directamente a partir del 4-bromocrotonato demetilo con amoníaco líquido no dieron resultados positivos.

El dl-norvalinato de metilo fue obtenido de la siguiente

manera:



LXXV



LXXVI

LXXVII

LXXVIII

LXXIX

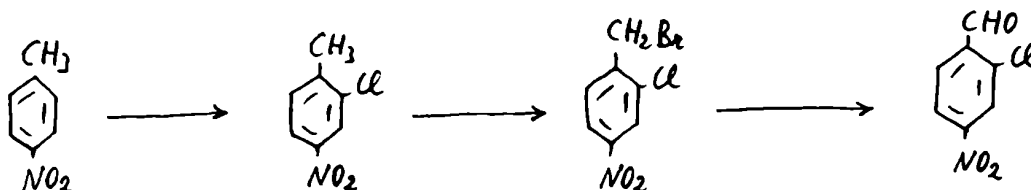
La dl-N-acetil norvalina (LXXVI) fue preparada a partir del éster dietílico del ácido acetamido malónico (LXXV) por una modificación del método de Sørensen según Snyder *et al.* (196). La separación del grupo acetilo fue hecha por ebullición prolongada con HCl al 10% (197). La esterificación de la valina, norvalina, norleucina e isoleucina requiere la ebullición con HCl alcohólico mientras que la esterificación de los otros aminoácidos puede efectuarse fácilmente a la temperatura ambiente (198).

El ácido dl-amino-fenilacético fue preparado a partir del aldehído benzoico, NaCN y cloruro de amonio según Org. Synth. (vol.22 pag.23) y su éster etílico fue preparado con etanol absoluto y HCl gaseoso a la temperatura de reflujo.

El aldehído *p*-ciano benzoico fué preparado a partir del *p*-ciano-tolueno según Bergmann y Pinchas (179). Sin embargo, no hemos observado la formación del aldehído *p*-carbamido benzoico y el rendimiento del aldehído *p*-ciano benzoico puro fué considerablemente más elevado en nuestro caso (37.6%).

El éster metílico de la norleucina fué obtenida con la misma técnica de esterificación que el éster metílico de la norvalina.

El aldehído 2-cloro-4-nitro benzoico fué preparado por cloración del *p*-nitrotolueno (199) seguida por la bromación con *N*-bromo-succinimida del 2-cloro-4-nitrotolueno resultante (200). El bromuro de 2-cloro-4-nitro bencilo así obtenido fué calentado con nitrato de plomo acuoso (201). La oxidación del 2-cloro-4-nitrotolueno con trióxido de cromo en presencia de anhídrido acético no dió el resultado esperado. Tampoco tuvo éxito el intento para obtener el aldehído deseado con la reacción de Sommelet a partir del bromuro de 2-cloro-4-nitro bencilo.



Estudios estereoquímicos :

En 1954 Bolhofer (170) informó que los isómeros eritro en la serie de las fenilserinas tienen una banda de absorción en el infrarrojo en 11.90 - 11.95 μ . Bolhofer basó su afirmación en la interpretación de los espectros de absorción en el infrarrojo de las siguientes sustancias:

| | |
|-----------------------------|--|
| treonina | |
| alotreonina | |
| <u>treo</u> y <u>eritro</u> | β -fenilserina |
| " | β -(<u>m</u> -hidroxi-fenil)-serina |
| " | β -(<u>p</u> -hidroxi-fenil)-serina |
| " | β -(3,4-dihidroxi-fenil)-serina |

Hemos estudiado el espectro de absorción en el infrarrojo (suspensión en "nujol") de las siguientes sustancias:

| | |
|-----------------------------|---|
| <u>treo</u> y <u>eritro</u> | β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serina |
| " | " β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinato de etilo |
| " | " clorhidrato de <i>p</i> -ciano fenilserinato de etilo |
| " | " - <i>p</i> -ciano fenilserinato de etilo |

eritro-clorhidrato de m-nitrofenilserinato de metilo

eritro (?) -clorhidrato de β -(o-nitrofenil)-serinato de etilo

eritro(?)-clorhidrato de 2,6-diclorofenilserinato de etilo

y hemos visto que la banda de absorción citada por Bolhofer no aparece en todos los compuestos que pertenecen a la serie eritro, por lo tanto, la presencia o ausencia de la banda en $11.90 - 11.95 \mu$ no nos permite llegar a ninguna conclusión respecto a la configuración estérica de una dada substancia.

Los espectros de absorción en el ultravioleta del treo- y del eritro- β -(p-nitrofenil)serinato de etilo (figura 13) (máximo en 2730 A, treo: $\log E_m = 4.05$, eritro: $\log E_m = 3.98$ y mínimo en 2330A, treo: $\log E_m = 3.40$, eritro: $\log E_m = 3.37$) y los espectros de sus respectivos clorhidratos (figura 14) (máximo en 2680 A, $\log E_m = 3.99$ y mínimo en 2300 A, $\log E_m = 3.37$) no muestran diferencia apreciable en la posición de los máximos y de los mínimos de los compuestos treo y eritro.

Figura 13

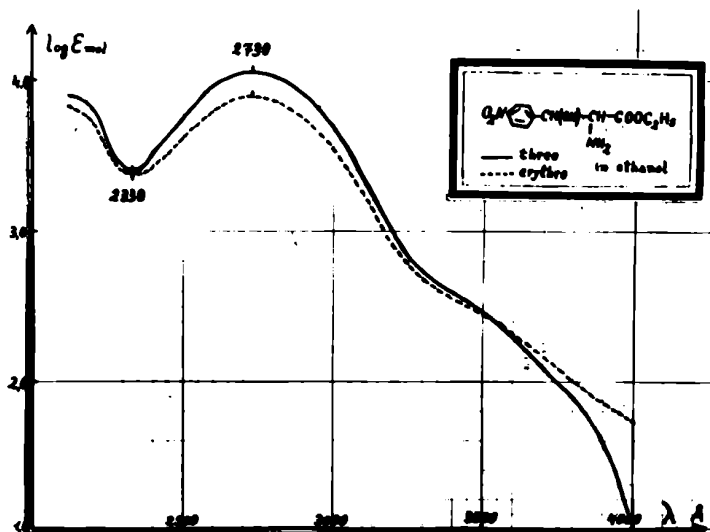
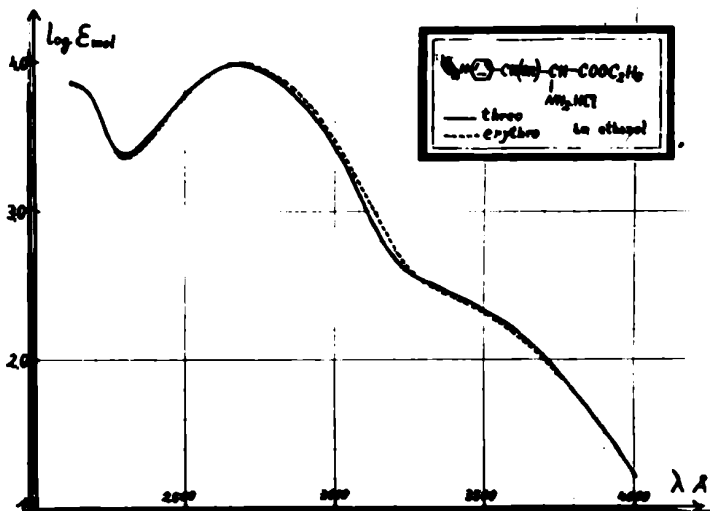


Figura 14

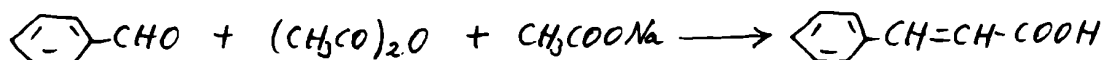


Capítulo 8

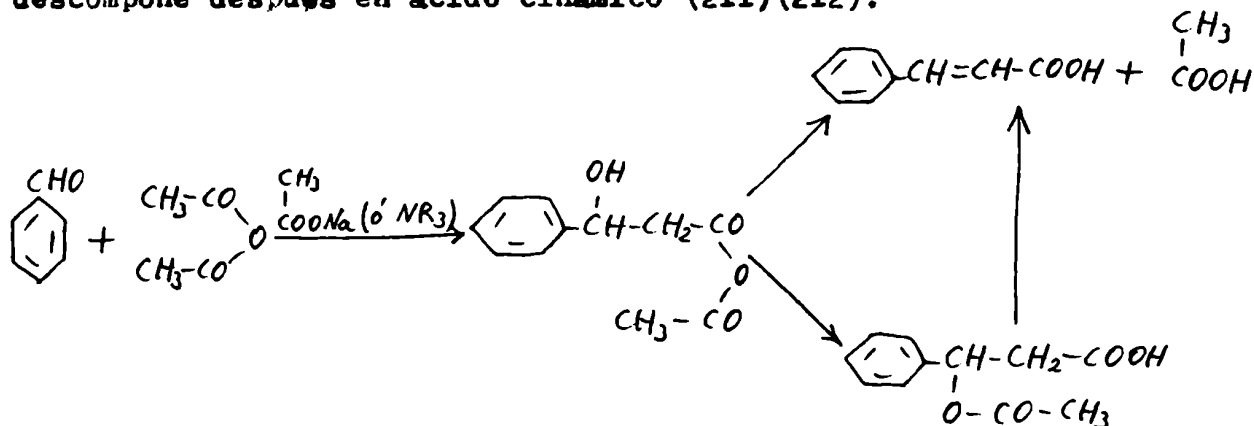
LA CONDENSACION DEL ACIDO FLUOROACETICO CON LOS ALDEHIDOS AROMATICOS

Con el objeto de estudiar la influencia del fluor en las propiedades químicas de los compuestos orgánicos hemos estudiado ciertas reacciones de condensación de tipo Perkin con el ácido monofluoroacético.

En la reacción del aldehido benzoico con el monofluoroacetat de sodio en presencia del anhídrido acético (reflujo a 180°) hemos observado que la mezcla reactante se oscurece y se desprende HF gaseoso. El producto obtenido resultó ser ácido cinámico. Este resultado parece estar de acuerdo con la hipótesis de Perkin (207) quién supuso que en la reacción que lleva su nombre, el anhídrido se condensa con el aldehido, actuando la sal sódica presente meramente como catalizador.

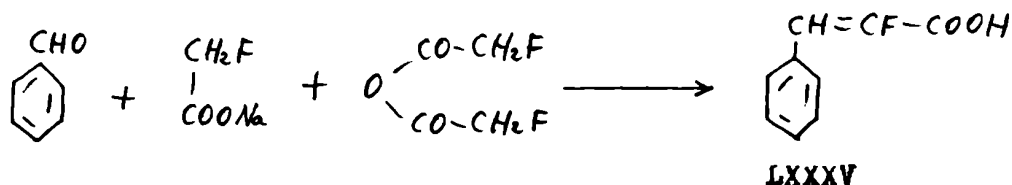


El punto de vista de Fitting (208), generalmente aceptado hace unos 20 años, que la sal se condensa con el aldehido y el anhídrido actúa solamente como agente deshidratante, se demostró estar en desacuerdo con los experimentos de Kalnin (209) y Breslow & Hanser (210). Según los puntos de vista modernos en la reacción de Perkin el aldehido reacciona con la sal sódica (anión enolato) de la forma enólica del anhídrido de ácido, formada por la interacción del anhídrido con la sal de sodio o con alguna otra base. El producto de adición formado se descompone después en ácido cinámico (211)(212):

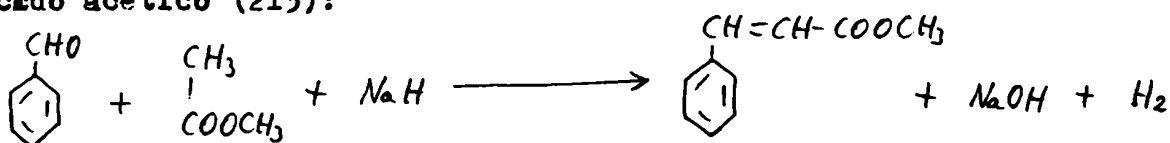


En la reacción del aldehido benzoico con el fluoroacetato de sodio y anhídrido fluoroacético, también hemos observado la descompo-

sición del producto de la reacción y el desprendimiento del HF gaseoso. Sin embargo, de la mezcla de reacción se pudo aislar ácido α -fluoro cinámico (LXXXV) si bien en cantidad pequeña (2% de rendimiento):

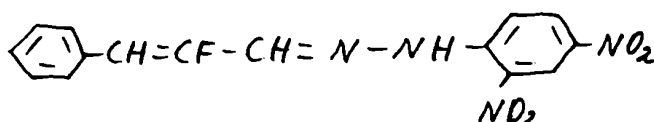
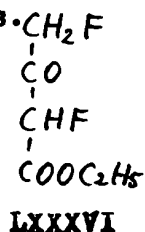


Hemos intentado mejorar la preparación de este producto (LXXXV) mediante el empleo del hidruro de sodio como agente de condensación. El NaH lleva a cabo varias condensaciones de tipo Claisen de manera semejante a los alquil-óxidos de sodio y al sodio. Por ejemplo, el aldehído benzoico puede condensarse con los ésteres del ácido acético (213):



Trazas de un alcohol, generalmente un producto secundario de la condensación, parecen ser necesarias para iniciar la reacción.

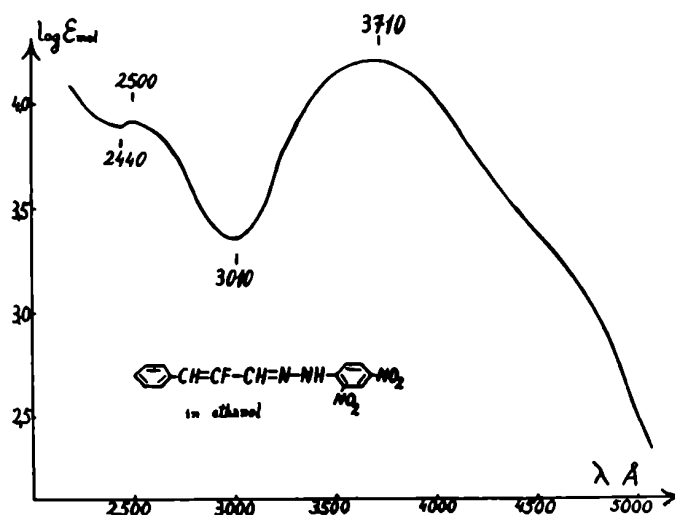
En la reacción del aldehído benzoico con el fluoroacetato de etilo en presencia de hidruro de sodio en éter absoluto, el exceso del hidruro de sodio fué descompuesto con alcohol y la solución fué acidificada con HCl. Se ha obtenido una mezcla de reacción compleja de la cual los siguientes compuestos han sido aislados: aldehído benzoico, ácido benzoico, ácido cinámico, ácido α -fluoro cinámico (LXXXV, 15% de rendimiento), benzoato de etilo y 2,4-difluoro acetoacetato de etilo (LXXXVI) (este último compuesto, LXXXVI, fué obtenido por McBee (214) agregando gota a gota fluoroacetato de etilo a una mezcla de éter y NaH). Es sorprendente el hecho que en estas condiciones parte de los productos aparece en forma de ácidos libres. Quedó un residuo líquido del cual no ha sido posible obtener fracciones homogéneas. Esta mezcla líquida dió con la 2,4-dinitro-fenilhidrazina una sustancia que contiene fluor y que resultó ser la 2,4-dinitro-fenilhidrazona del aldehído α -fluoro cinámico (LXXXVIa). Hasta ahora no han sido informados fenómenos de reducción bajo esas condiciones experimentales.



LXXXVIa

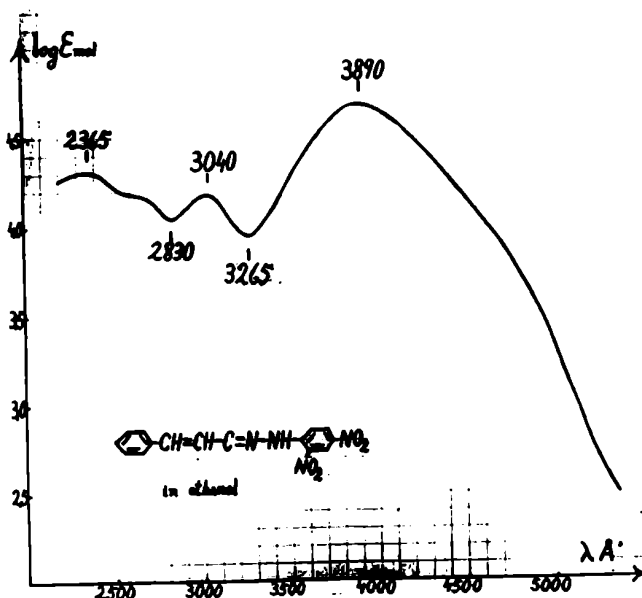
La constitución del compuesto LXXXV fué deducida de su análisis de C y de H y de su espectro de absorción en el ultravioleta. La sustancia (figura 15) presenta un máximo en 3710 Å ($\log E_m = 4.21$) y en 2500 Å ($\log E_m = 3.92$) y presenta mínimos en 3010 Å ($\log E_m = 3.37$) y en 2440 Å ($\log E_m = 3.89$).

Figura 15



La 2,4-dinitro-fenilhidrazona del aldehído cinámico (figura 16) presenta máximos en 3890 Å ($\log E_m = 4.68$) (Johnson (205) halló en 3910 Å, $\log E_m = 4.59$), en 3040 Å ($\log E_m = 4.18$) y en 2365 Å ($\log E_m = 4.32$) y mínimos en 3265 Å ($\log E_m = 3.95$) y en 2830 Å ($\log E_m = 4.04$).

Figura 16



Así tenemos entre los dos máximos principales un efecto hipsocrómico de $\Delta\lambda = 3890 - 3710 = 180\text{Å}$, probablemente debido a la presencia del

átomo de fluor. Efecto hipsocrómico similar fué observado en el ácido α -fluoro cinámico (LXXXV, figura 17) $\Delta\lambda = 2780 - 2620 = 160\text{A}$, y en el 1-fluoro-1-carboxi-4-fenilbutadieno (LXXXVII, figura 18) $\Delta\lambda = 3140 - 3020 = 120 \text{ A}$.

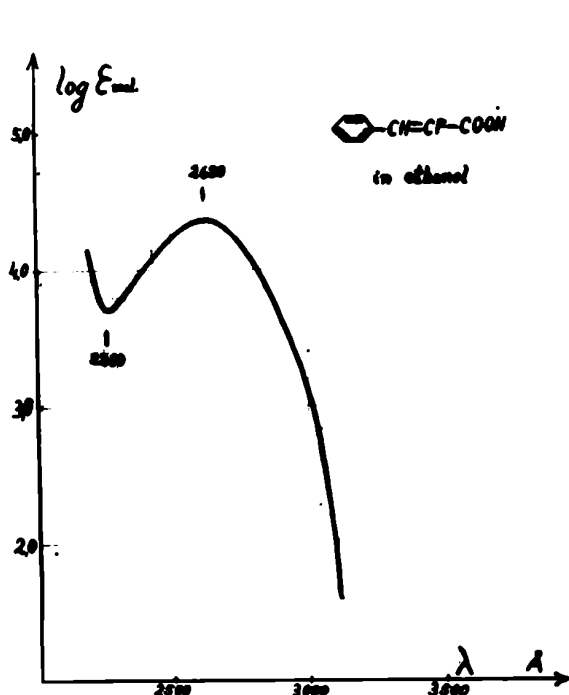


Figura 17

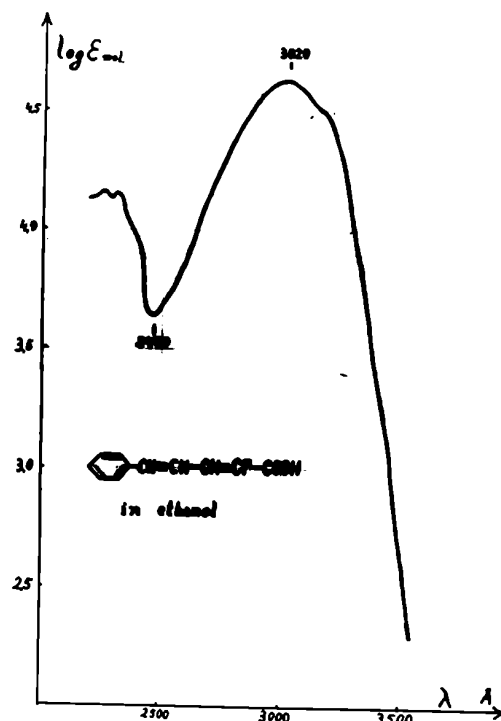
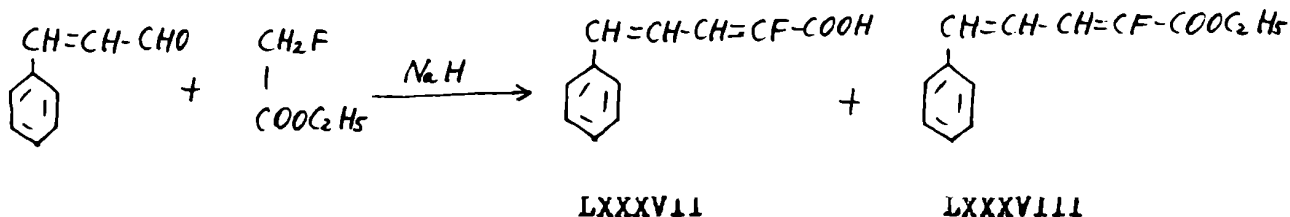


Figura 18

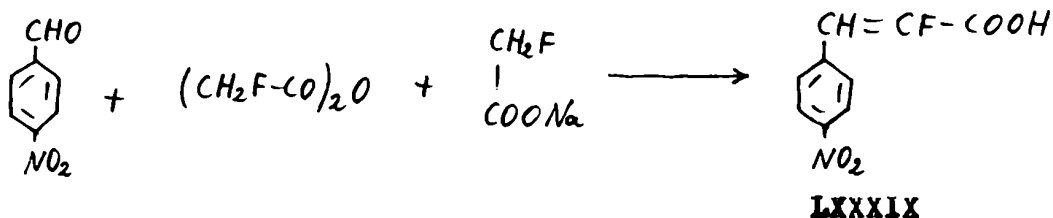
La esterificación del ácido α -fluoro cinámico fué efectuada con alcohol y ácido sulfúrico. Intentos para efectuar la esterificación con cloruro de acetilo en alcohol absoluto (procedimiento empleado con el compuesto LXXI, página 89) dieron resultados negativos.

En la condensación del aldehído cinámico con el fluoroacetato de etilo con hidruro de sodio hemos obtenido al 1-fluoro-1-carboxi-4-fenilbutadieno (LXXXVII) y su éster etílico (LXXXVIII).



En la condensación de Perkin del aldehído *p*-nitro benzoico con el anhídrido fluoroacético y fluoroacetato de sodio hemos obtenido

el ácido *p*-nitro- α -fluoro cinámico (LXXXIX) :



La comparación de los espectros de absorción en el ultravioleta del ácido α -fluoro cinámico (LXXXV, figura 17) que presenta un máximo en 2620A (log E_m = 4.36) y un mínimo en 2260 A (log E_m = 3.70) y del 1-fluoro-1-carboxi-4-fenilbutadieno (LXXXVII, figura 18) (máximo en 3020 A, log E_m = 4.63 y mínimo en 2470 A log E_m = 3.64) con los espectros de absorción del ácido cinámico (273) (máximo en 2780 A y mínimo en 2350 A) y del 1-carboxi-4-fenilbutadieno (206) (máximo en 3140 A y mínimo en 2500 A) pone en relieve que también en esos casos el ~~mm~~ compuesto con fluor en la posición α presenta banda de absorción de frecuencia mayor.

El espectro de absorción en el infrarrojo del 1-fluoro-1-carboxi-4-fenilbutadieno (LXXXVIII, figura 19) (0.0414g en 1 ml de cloroformo) presenta bandas en 1643 cm^{-1} (C=C conjugado con grupo éster, Dauben and Mance (215)) y en 1720 cm^{-1} (-COOR conjugado con grupo C=C, Grove y Willis (216)).

El espectro de absorción en el infrarrojo del 1-fluoro-1-carboxi-4-fenilbutadieno (LXXXVII, figura 20) (suspensión en "nujol") presenta bandas en 1634 cm^{-1} (C=C conjugado con ácido no saturado) y en 1690 cm^{-1} (grupo carboxilo cerca de C=C).

El espectro de absorción en el ultravioleta del ácido *p*-nitro- α -fluoro cinámico (figura 21) en etanol presenta máximos en 2300 A (log E_m = 4.03) y en 3120 A (log E_m = 4.17) y un mínimo en 2630 A (log E_m = 3.64). Para comparar hemos hecho el espectro de absorción en el ultravioleta del ácido *p*-nitro- α -bromo cinámico en etanol (figura 22): presenta un máximo en 3040 A (log E_m = 4.35) y un mínimo en 2460 A (log E_m = 3.74). En el año 1915 Purvis informó (286) que el ácido *p*-nitro cinámico tiene una banda de absorción máxima en 2940 A.

El espectro de absorción en el infrarrojo del ácido *p*-nitro- α -fluoro cinámico (suspensión en "nujol") (figura 23) presenta bandas en 1704 cm^{-1} (grupo carboxilo conjugado con doble ligadura (216)), en 1606 cm^{-1} (C=C), 1124 cm^{-1} (C-F cerca de doble ligadura) y una inflexión en 3100 cm^{-1} (OH ácido).

Figura 19

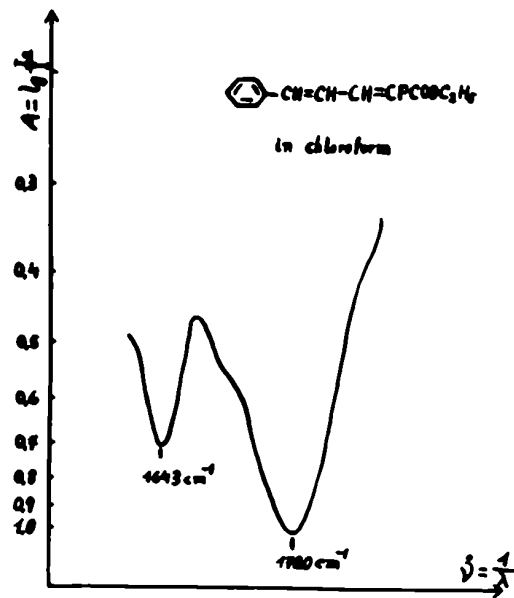
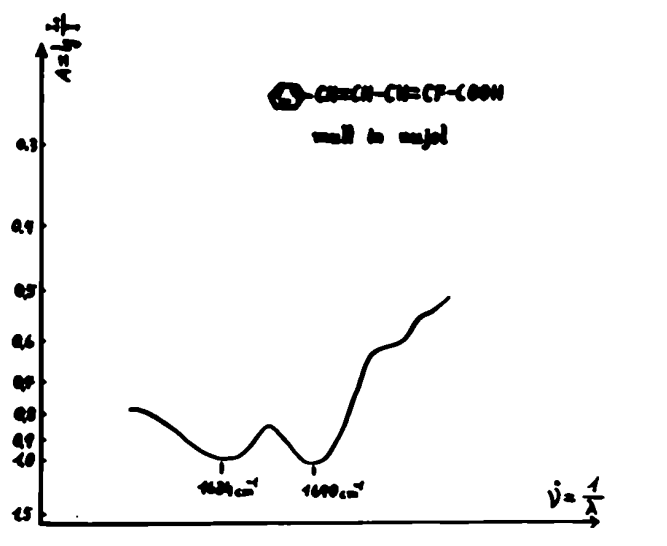


Figura 20



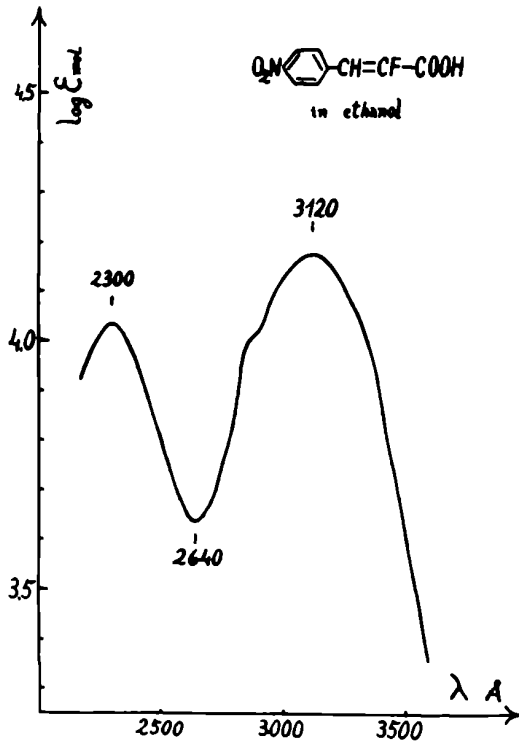


Figura 21

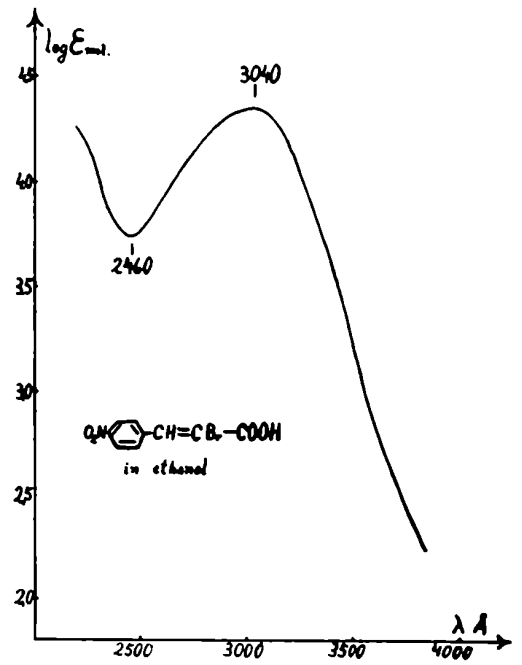


Figura 22

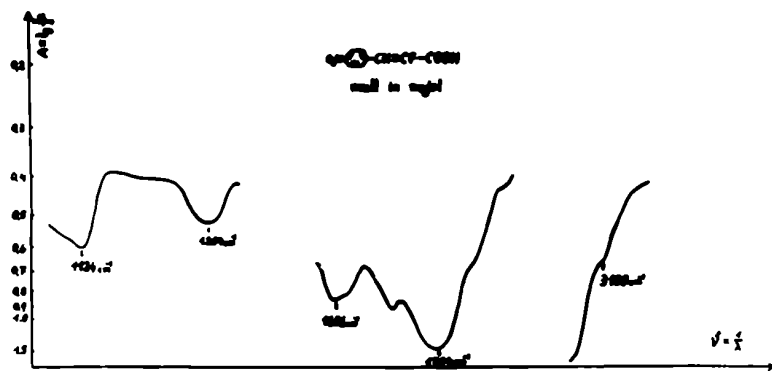


Figura 23

La influencia del átomo de fluor en la posición de las bandas de absorción en el infrarrojo se manifiesta en un aumento de la frecuencia (277), por ejemplo, butirato de etilo absorbe en 1739 cm^{-1} y el perfluoro butirato de etilo, $\text{C}_2\text{F}_7\text{COOC}_2\text{H}_5$, en 1787 cm^{-1} . Según Rasmussen y Brattain (276) los sustituyentes electronegativos en posición α ocasionan un aumento en la frecuencia (efecto-I), por ejemplo, el acetato de etilo presenta una banda en 1735 cm^{-1} y el $\text{CN-CH}_2\text{-COOC}_2\text{H}_5$ presenta una banda en 1751 cm^{-1} . Según Colthup (274) el lugar de la banda de absorción del grupo $=\text{C}=\overset{\cdot}{\text{C}}-\text{F}$ es en $1100\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ pero en este lugar se encuentran también las bandas de absorción de diferentes ésteres, éteres, alcoholes, etc., por lo tanto esta banda no es útil para la identificación del fluor en muestras desconocidas.

En la condensación del aldehído α -cloro benzoico con el fluoroacetato de etilo con hidruro de sodio se obtuvo un producto de reacción ácido. Su espectro de absorción en el infrarrojo (suspensión en "nujol") (figura 24), presenta un grupo OH-alcohólico (3325 cm^{-1}) y un grupo OH con una ligadura de hidrógeno muy fuerte (2560 cm^{-1}) debido probablemente a una forma asociada de ácido y una banda en 1725 cm^{-1} que es el lugar de absorción del grupo carboxílico saturado (un poco mas elevado quizás por causa del átomo de fluor en posición α). Suponemos por lo tanto que el producto tiene la estructura siguiente:XC

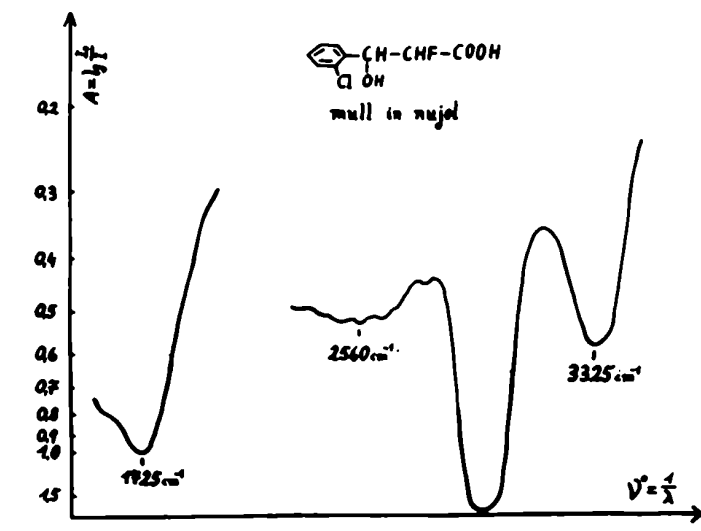
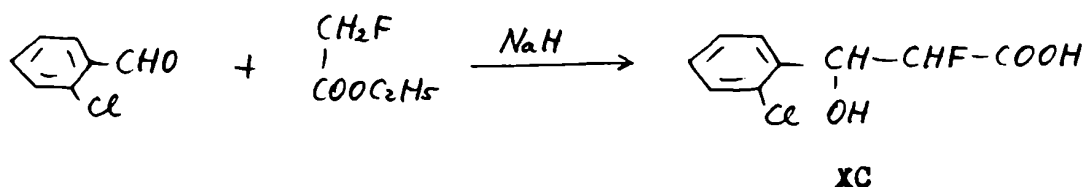
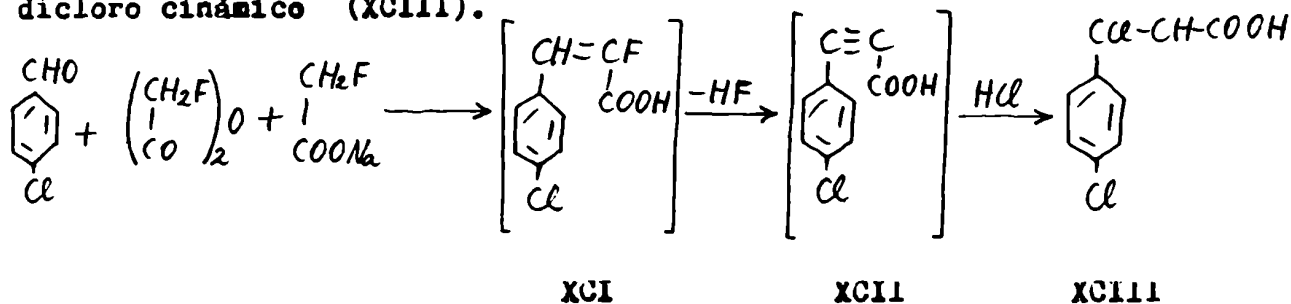


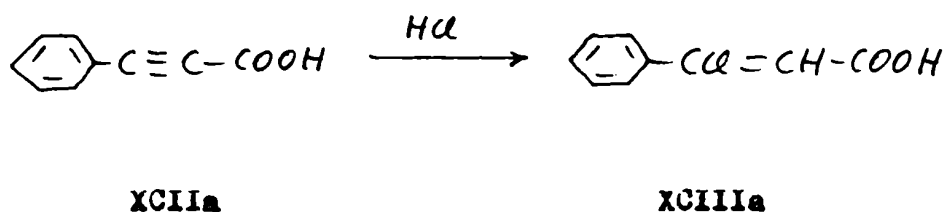
Figura 24

Hemos visto que se supone generalmente (212) que la etapa intermedia en las reacciones de condensación de tipo Claisen-Schmidt y Perkin es la formación de un compuesto aldólico. Posiblemente, la deshidratación no puede tener lugar en el compuesto XC por causa de la ligadura de hidrógeno que existe entre el átomo de cloro y el grupo OH.

En la condensación de Perkin del aldehído *p*-cloro benzoico con anhídrido fluoroacético en presencia de acetato de sodio, la mezcla reactante fué extraída con una solución de carbonato de sodio y la solución alcalina fué precipitada con HCl. Resultó un compuesto blanco cristalino (XCIII) en el que el análisis reveló la presencia de dos átomos de cloro. Podemos por lo tanto suponer, que el ácido *p*-cloro- α -fluoro cinámico (XCI) pierde HF y el compuesto acetilénico inestable (XCII) reacciona con el ácido clorhídrico dando el ácido 4, β -dicloro cinámico (XCIII).

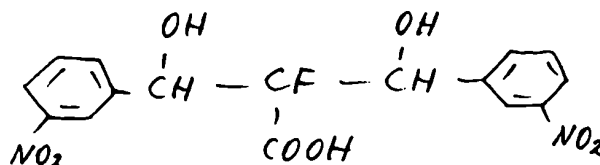


La formación del ácido β -cloro cinámico (XCIIIa) a partir del ácido β -fenil propiónico (XCIIa) por la adición de HCl fué demostrada por Michael et al. hace 65 años (275).



En la condensación de Perkin del aldehído *m*-nitro benzoico con anhídrido fluoroacético en presencia de acetato de sodio hemos obtenido un compuesto que contiene fluor (XCIV). Su espectro de absorción en el infrarrojo (suspensión en "nujol") presenta bandas en 3400 cm^{-1} (OH alcohólico) (figura 25), una inflexión en 3180 cm^{-1} (OH ácido), una banda en 1711 cm^{-1} (grupo carboxílico no conjugado), una banda en 1614 cm^{-1} (anillo bencénico) y bandas en 1210 y en 1022 cm^{-1} (quizás CF). Podemos suponer por lo tanto basándonos en los

datos anteriores y en el análisis químico (página 116) que dos moles de aldehído m-nitro benzoico dieron una condensación aldólica con un mol de anhídrido fluoroacético resultando el siguiente compuesto (XCIV) :



XCIV

Ácido 1,3-(m-nitrofenil)-1,3-(dihidroxi)-2-fluoro isobutanoico

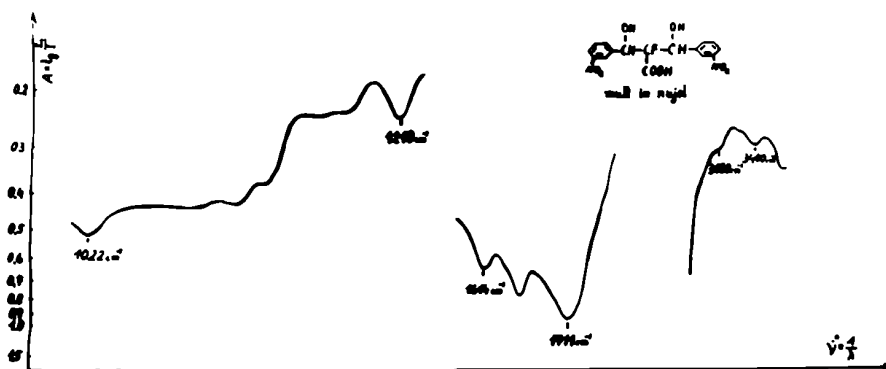
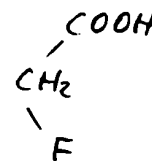
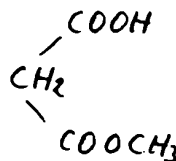
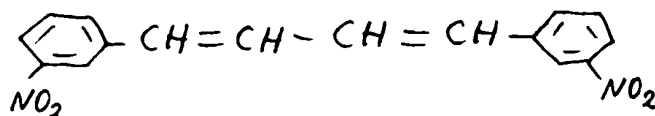


Figura 25

A. Galat (217) obtuvo ésteres aril-acrílicos por la condensación de los aldehídos benzoicos substituidos con los hemi-ésteres del ácido málnico con el procedimiento de Doebner y Knoevenagel. Por ejemplo, obtuvo m-nitro cinamato de metilo a partir del aldehído m-nitro benzoico y del malonato de monometilo. Teniendo en cuenta la semejanza existente entre el malonato de monometilo y el ácido α -fluoroacético (283) hemos efectuado la condensación del aldehído m-nitro benzoico con el α -fluoroacético en solución de piridina con piperidina como catalizador. Una substancia neutra, amarilla, de punto de fusión elevado (245^u) fué obtenida. No contiene fluor y su espectro de absorción en el ultravioleta en cloroformo (figura 26) presenta máximos en 2720 A (log E_m = 4.32) y en 3130 A (log E_m = 4.44) y un



mínimo en 2840 Å (log $\epsilon_m = 4.39$). La sustancia es probablemente el 1,4-dí-m-nitrofenil butadieno (XCV) :



XCV

Según Hirschberg, E.D.Bergmann y F.Bergmann (218), el difenil butadieno en solución alcohólica presenta un máximo en 3140 Å (log $\epsilon_m = 4.62$). La condensación de Doebner-Knoevenagel del aldehído benzoico con el ácido α -fluoro acético y la condensación del aldehído m-nitro benzoico con el fluoroacetato de etilo no dió ningún producto definido.

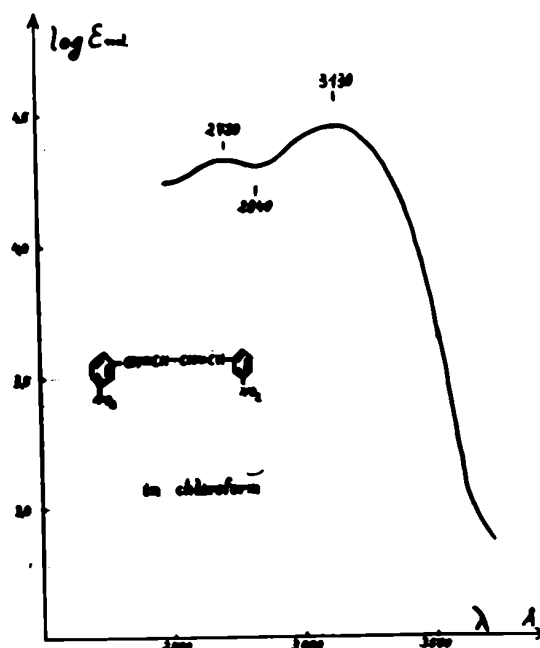
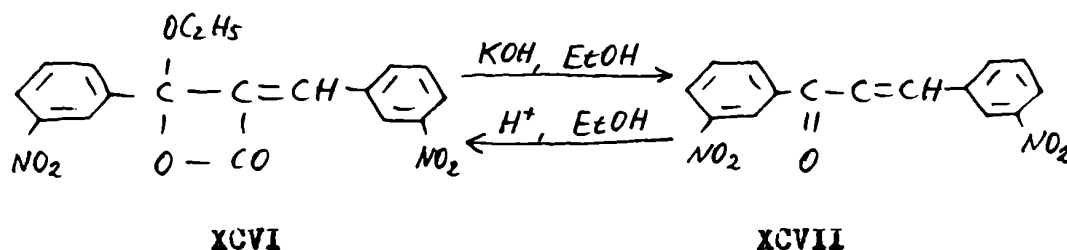


Figura 26

Dakin (280) observó que los aldehídos aromáticos se condensan fácilmente con el ácido malónico a la temperatura de 37° si se usan glicina o alanina como catalizador. Nuestros intentos para efectuar la condensación del aldehído cinámico (1 mol) con el ácido α -fluoroacético (1 mol) (catalizador: glicina o alanina) y la condensación del aldehído m-nitro benzoico (1 mol) con el ácido α -fluoroacético (1 mol)

(catalizador: glicina), a la temperatura de 37°, dieron resultados negativos.

En la condensación del aldehído m-nitro benzoico con el fluoroacetato de etilo con NaH, hemos obtenido una sustancia neutra, blanca de punto de fusión de 136° que no contiene fluor. El análisis y la interpretación de su espectro de absorción en el infrarrojo indican la fórmula XCVI :



La saponificación de XCVI con potasa alcohólica produce el compuesto XCVII. Este compuesto fué aislado también, en pequeña cantidad (1.1% de rendimiento) directamente de la mezcla reactante. La esterificación del XCVII por destilación azeotrópica con benceno hirviente, etanol y ácido p-toluenesulfónico conduce al compuesto XCVI.

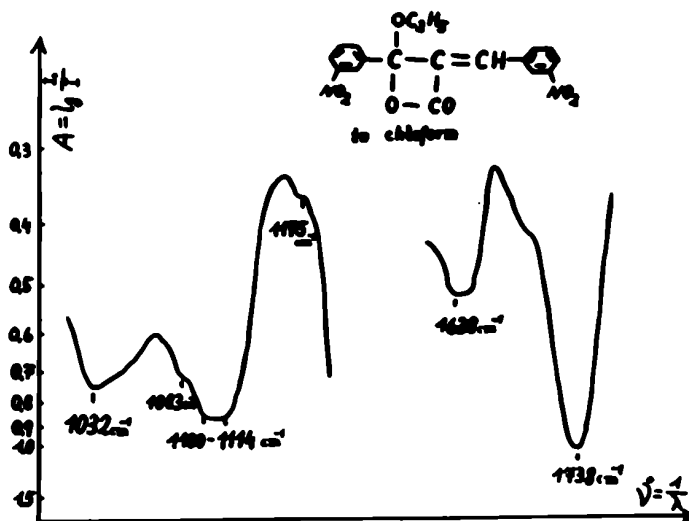
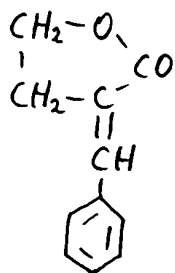


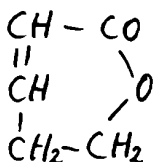
Figura 27

El espectro de absorción en el infrarrojo de XCVI (0,088 g en 1 ml de cloroformo) (figura 27) presenta bandas en 1738 cm^{-1} , 1638 cm^{-1} (doble ligadura), 1032 cm^{-1} , 1100 y 1114 cm^{-1} y una inflexión en 1083 cm^{-1} y en 1175 cm^{-1} . Según Pinder (219) la 2-bencilideno-4-butirolactona (XCVIII) y la 5-hexenelactona (1C) presentan bandas de

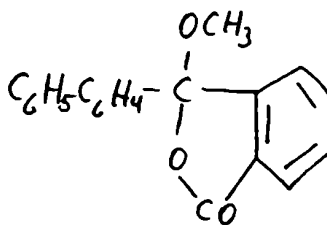
absorción en 1742 y en 1725 cm^{-1} respectivamente. Aquí vemos que la frecuencia aumenta en los anillos de cuatro miembros (compuesto XCVI) pero debido a la presencia del grupo éter que tiene efecto contrario a la banda observada, 1783 cm^{-1} , parece estar en concordancia buena con la fórmula XCVI.



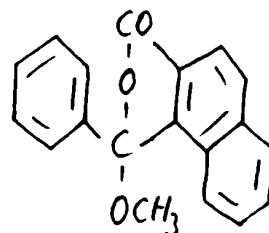
XCVIII



IC



C

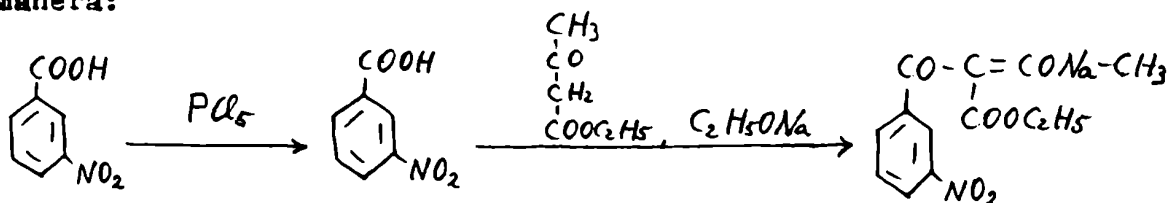


CI

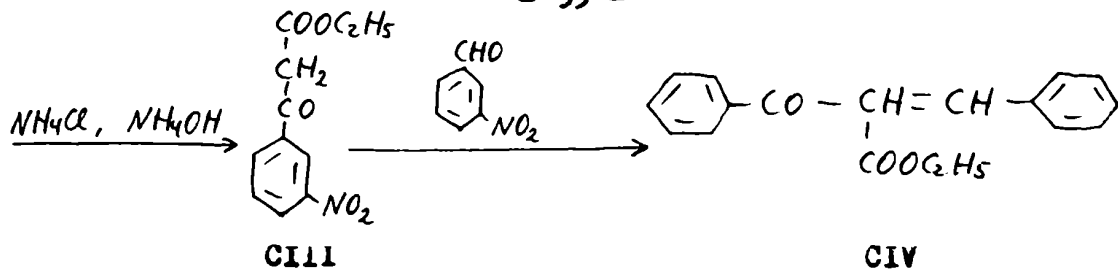
"Seudo ésteres" de este tipo fueron obtenidos por Bergmann y Pinchas (220) (compuesto C) y por Fieser (221) (compuesto CI). Bergmann y Pinchas observaron (222) que todos los acetales y ketales presentan las cuatro siguientes bandas 1158-1190, 1124-1143, 1063-1098 y 1038-1053 cm^{-1} . La concordancia de las bandas del compuesto XCVI (figura 27) con las bandas de los acetales no es perfecta pero si tenemos en cuenta que uno de los grupos éter es parte del anillo de cuatro miembros, podemos considerar que la concordancia es suficientemente buena para aceptar la estructura ketálica para el compuesto XCVI.

Es espectro de absorción en el infrarrojo de XCVII (figura 28) (suspensión en "nujol") presenta bandas en 1642 cm^{-1} (doble ligadura), 1691 cm^{-1} (C=C-COOH) y en 3100 (OH del grupo carboxilo). La ausencia de las típicas bandas de absorción de los ketales nos indica, por lo tanto, la estructura de "ácido libre" para el compuesto XCVII.

Con el objeto de examinar la fórmula isomérica (CIV), (m-nitrobencilideno-m-nitrobenzoilacetato de etilo), para el producto obtenido en la condensación del aldehído m-nitro benzoico con el fluoracetato de etilo, hemos sintetizado al compuesto CIV de la siguiente manera:

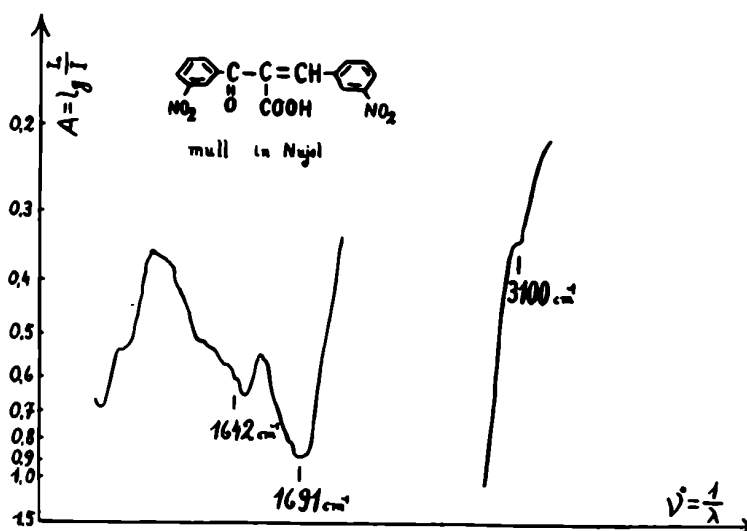


CIV

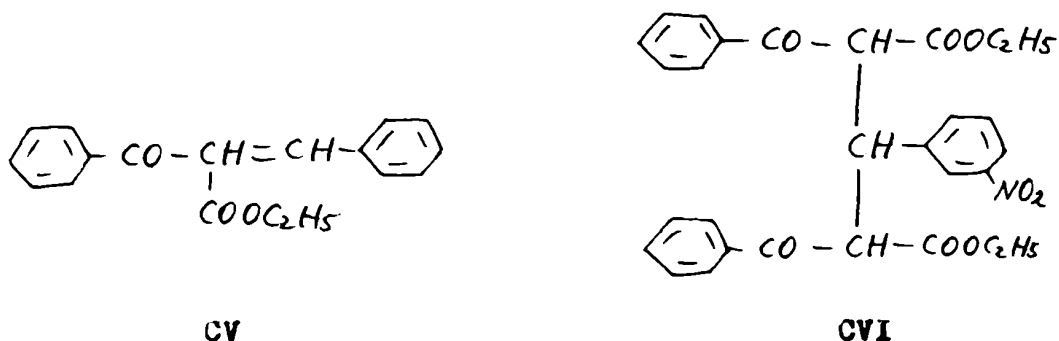


El cloruro de m-nitro benzoil fué preparado según Claisen y Thompson (223) y fué condensado con el acetoacetato de etilo y etilato de sodio en éter absoluto. El enolato resultante (CII) fué desacetilado según Bülow (224) y se condensó el m-nitrobenzoil acetato de etilo obtenido (CIII) con el aldehido m-nitro benzoico en alcohol con una pequeña cantidad de piridina para dar el m-nitrobenzilideno-m-nitrobenzoil-acetato de etilo (CIV).

Figura 28



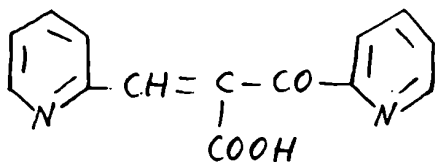
Con este procedimiento de condensación, Ruheman (225) en 1903 obtuvo en m-nitrobenzilideno benzoilacetato de etilo (CV). Cuando usó dietilamina en lugar de piperidina logró la condensación de dos moles de benzoilacetato de etilo con un mol de aldehido m-nitro benzoico (compuesto CVI) :



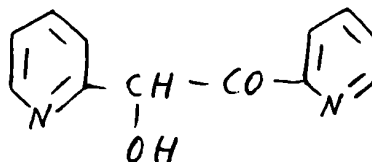
Sin embargo, nosotros no hemos conseguido efectuar la condensación del m-nitrobenzoilacetato de etilo (CIII) con el aldehído m-nitro benzoico en alcohol con una pequeña cantidad de dietilamina. Tampoco tuvieron éxito nuestros intentos para hacer la condensación del CIII con el aldehído m-nitro benzoico con acetato de sodio o en solución de piridina con piperidina como catalizador.

El espectro de absorción en el ultravioleta del compuesto CIV (figura 29) muestra máximos en 2500 A ($\log E_m = 4.49$) y en 2940 A ($\log E_m = 4.42$) y un mínimo en 2860 A ($\log E_m = 4.39$). El espectro de absorción en el infrarrojo del compuesto CIV (figura 30) (suspensión en "nujol") presenta bandas en 1610 cm^{-1} (doble ligadura conjugada con grupos fenilo y carboxilo), en 1669 cm^{-1} (grupo carboxilo) y en 1736 cm^{-1} (éster). Según Grove y Willis (216), la no saturación en $\alpha - \beta$ mueve las frecuencias de las bandas de los ésteres hacia abajo (banda en 1720 cm^{-1}) pero en el compuesto CIV tenemos un grupo electronegativo (CO) que hace aumentar la frecuencia (Rasmussen y Brattain (276)) y ésta queda, por lo tanto, casi el mismo (1736 cm^{-1}).

En la condensación del aldehído 3-piridínico y 4-piridínico con el fluoroacetato de etilo en presencia de hidruro de sodio en éter seco, hemos obtenido los ácidos nicotínico e isonicotínico respectivamente. Pero en la condensación del aldehído 2-piridínico obtuvimos una substancia cristalina parda-rojiza (CVII) que no contiene fluor. El espectro de absorción de este compuesto az (CVII) (figura 31) presenta un máximo en 3780 A ($\log E_m = 4.34$) y un mínimo en 2780 A ($\log E_m = 3.69$). El compuesto CVII debe ser comparado con la α -piridoina (CVIII) que también es de mismo color (278). Pero como el compuesto CVII no da clorhidrato de color amarillo limón, no nos es posible identificarlo con la α -piridoina (279).



CVII



CVIII

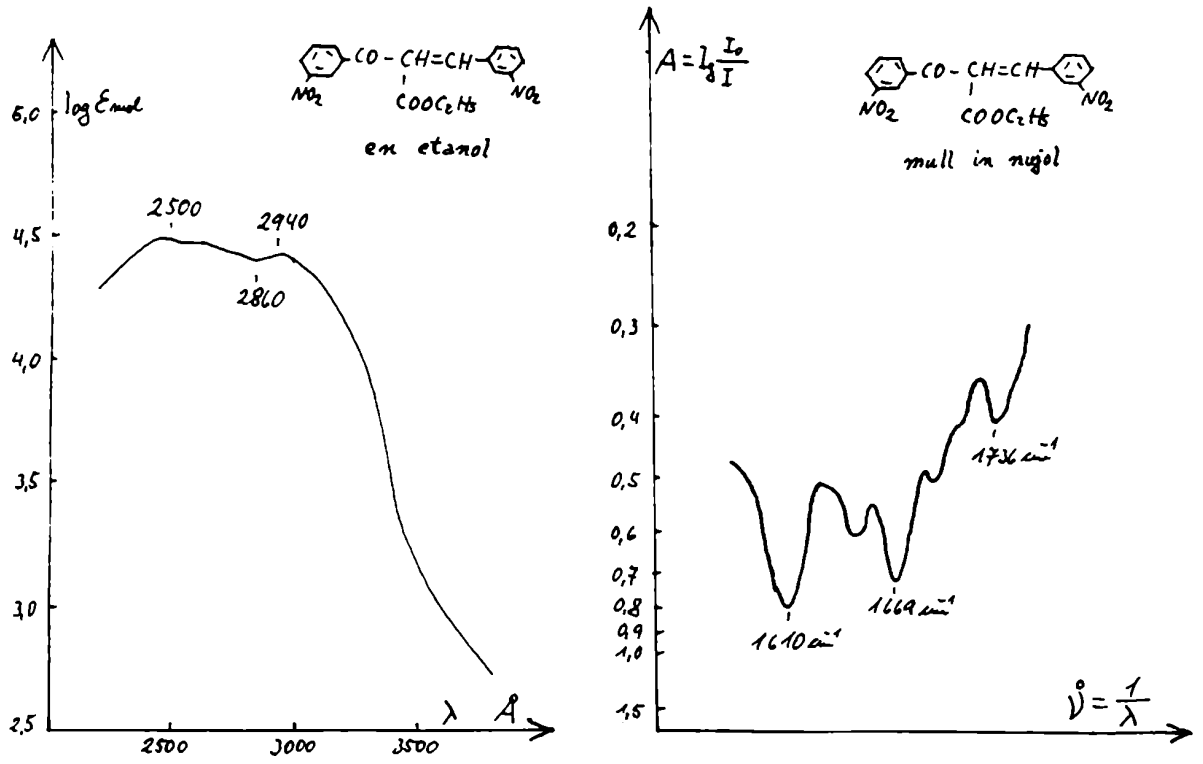


Figura 29

Figura 30

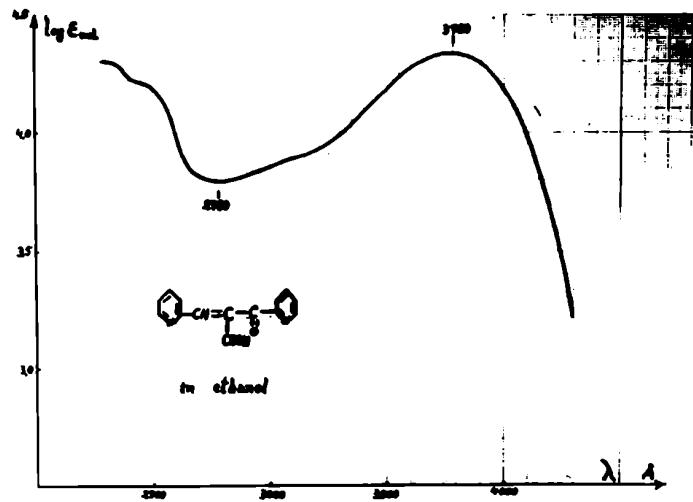
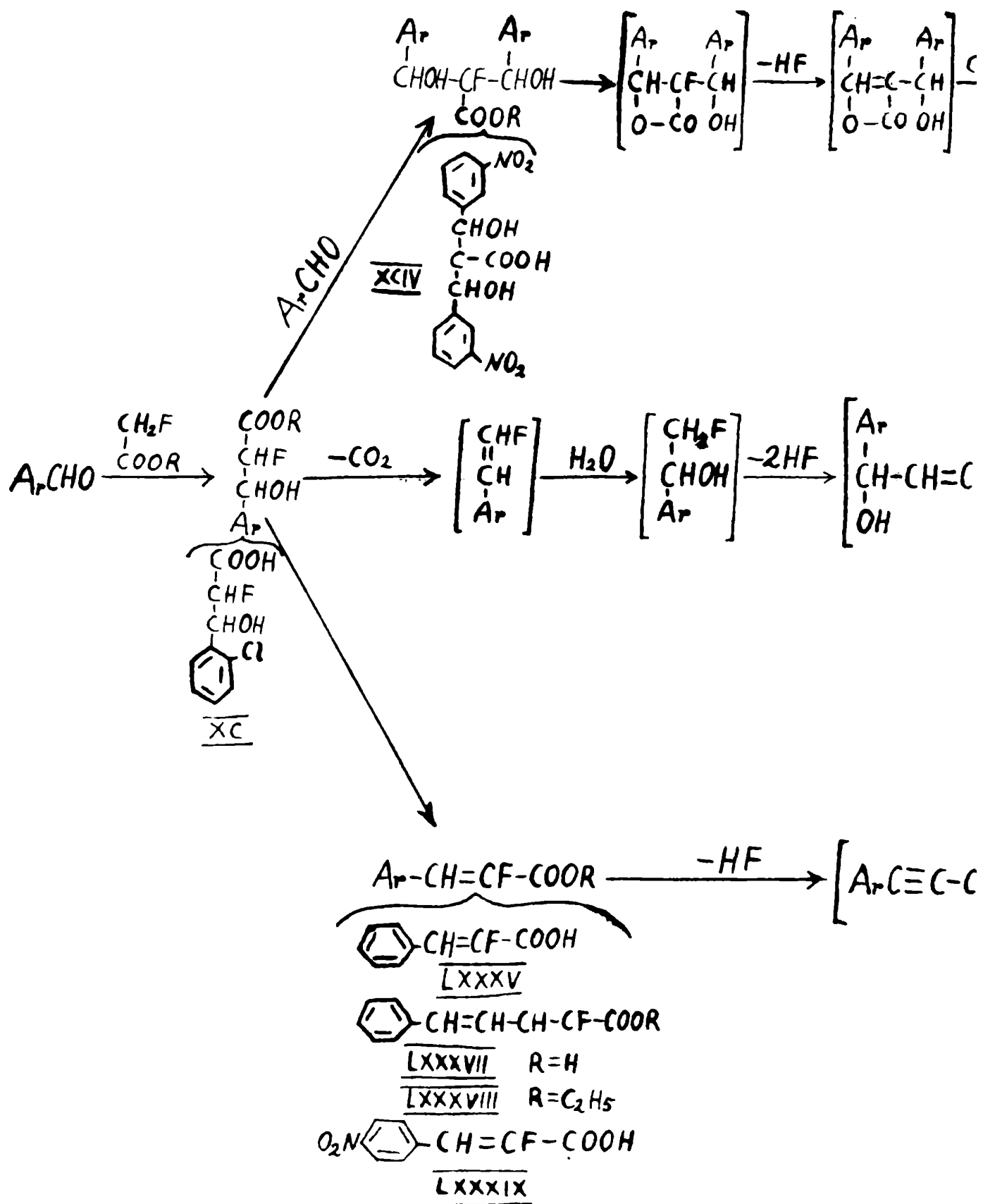
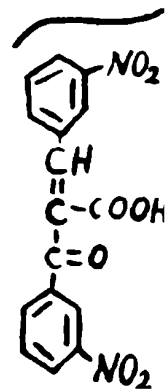
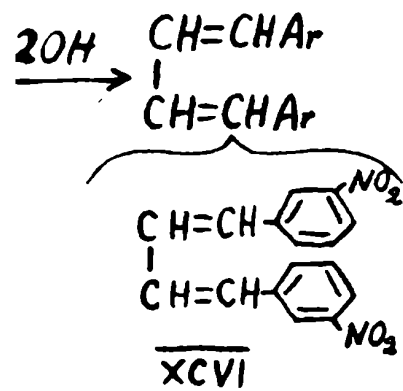


Figura 31





PARTE PREPARATIVA

Los puntos de fusión no están corregidos.

El glicinato de metilo usado en estos experimentos fué redestilado inmediatamente antes de ser usado.

Los experimentos con hidruro de sodio fueron llevados a cabo bajo atmósfera de nitrógeno en condiciones estrictamente anhidras.

Han sido tomadas medidas de precaución contra explosiones en los experimentos con fluoborato de diazonio e hidruro de sodio y contra envenenamientos en los experimentos con el ácido fluoroacético. y sus derivados.

m-Fluorotolueno: (ver página y siguientes)

El fluoroborato de m-tolidiazonio fué preparado, con un rendimiento de 91%, a partir de la m-toluidina recientemente destilada, según Shirley (181) y después fué calentado en un aparato de destilación hasta su punto de descomposición. El m-fluorotolueno resultante fué destilado y recogido en un recipiente enfriado con hielo. Tanto el destilado como el residuo fueron extraídos con éter, los extractos fueron unidos y destilados otra vez. El destilado obtenido contenía BF_3 disuelto, el cual fué eliminado hirviéndolo a reflujo con agua. P. de eb. 114-116°. Rendimiento (calculado sobre la m-toluidina) :79%.

Aldehído m-fluoro benzoico:

a) El m-fluorotolueno fué calentado en un aparato de reflujo y cloro seco fué burbujeado en el líquido fuertemente iluminado hasta que el punto de ebullición subió a 200° y el aumento de peso correspondió a la cantidad teórica de cloro. El cloruro de m-fluoro benzilideno crudo ($m-F-C_6H_5-CHCl_2$) obtenido fué calentado a reflujo durante 4 horas en atmósfera de CO_2 con 8 partes de agua y 3 partes de $CaCO_3$ precipitado finamente pulverizado. Se desarrolla una cantidad considerable de espuma. La mezcla fué extraída con éter. El extracto etéreo fué secado con sulfato de sodio anhidro, concentrado con una aplicación mínima aplicación de calor y el residuo fué prestamente destilado por arrastre de vapor. P. de eb. 169°-170° (Brady y Jarret (229) hallaron 170° y Shoesmith et al. (188): 173°)

Rendimiento: 70%

b) 11g (0.1 mol) de m-fluorotolueno, 20f de N-bromosuccinimida, 50 ml de tetracloruro de carbono y 0.1g de peróxido de dibencilo fueron calentados a la temperatura de reflujo durante 5 horas. Fué observado un oscurecimiento de la mezcla reactante con formación de bromo libre. La mezcla fué lavada con una solución de $Na_2S_2O_3$ y destilada. P. de ebul. 103-106°/33 (Baker (187) halló 87°/17mm). Se obtuvieron 9.4g (50% de rendimiento) de bromuro de m-fluorobencilo.

6.6g (0.03 moles) de bromuro de m-fluorobencilo fueron calentados a reflujo durante dos y media horas con un exceso (12g) de hexamina en cloroformo según Angyal (186). La sal cuaternaria preci-

pitada (10g, 87% de rendimiento) fué filtrada y lavada con cloro-
formo. P. de f. 186°.

| | | | |
|--------------------------------|-----------|---------|----------|
| $C_{13}H_{13}N_4FBr$ requiere: | C 47.43 % | hallado | C 47.42% |
| | H 5.49% | | H 6.06 |

La sal cuaternaria de bromuro de m-fluorobencilo fué hidro-
lizada según Angyal (186) por calentamiento durante una hora con
100 ml de ácido acético de 50%, después 50 ml de HCl dil. fueron
agregados y la mezcla fué calentada por otros 5 minutos más. 2.9g
[90% de rendimiento) de aldehído m-fluoro benzoico fueron obteni-
dos. P. de ebullición: 170° (Rendimiento calculado sobre bromuro
de m-fluoro bencilo y el aldehído m-fluor obencilo: 69%). El bro-
muro de m-fluoro bencilo y el aldehído m-fluoro benzoico han sido
obtenidos por otros métodos por Baker (187) y Shoesmith etal .(188)
respectivamente.

Bisulfito sódico del aldehído m-fluoro benzoico: Cristales blancos.

| | | | |
|----------------------------|----------|----------|-----------|
| $C_7H_6O_3SNaF$ requiere : | C 36.84% | hallado: | C 37.13 % |
| | H 2.63 | | H 2.56 |

Semicarbazona del aldehído m-fluoro benzoico: Cristales blancos.

Punto de f.: 206,5-207°. $C_8H_8ON_3F$ requiere: C 53.0 % hallado: C 52.4%
H 4.45 H 4.72

Aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico:

a) A una mezcla bien agitada y enfriada (baño de hielo) de 100
ml de anhídrido acético y 2 ml de ácido sulfúrico (d 1.84) se agre-
gó lentamente 20f de aldehído 3-fluoro benzoico disuelto en 50 ml
de anhídrido acético. Se agregó ácido nítrico (40 ml, d.1.54) con
agitación vigorosa y a tal velocidad (aproximadamente 30 minutos)
que la temperatura de la mezcla se mantuvo entre 20 y 30°. Se si-
guió agitando la mezcla de 20-30° durante 3 horas y luego la mez-
cla fué volcada sobre hielo. El producto sólido obtenido fué se-
parado por filtración, lavado con agua y etanol enfriados y fué
ca lentado en baño de María con condensador a reflujo durante una
hora con 85 ml de agua, 85 ml de alcohol y 7 ml de ácido sulfúri-
co concentrado. A cabo de una hora la mezcla fué volcada sobre hie-
lo con buena agitación. El precipitado de aldehído 6-nitro-3-fluoro

benzónico fué separado y secado en vacío con cloruro de calcio. Agujas blancas, soluble en éter, etanol y acetona, 18,9 g (85% de rend.) P.de f. 88-89°, después de una recristalización en alcohol isopropílico el punto de fusión sube a 93-93.5°.

$C_7H_4O_3NF$ requiere: C 49,65% hallado C 49,84 %
 H 2,37 H 2,35
 F 11,2 F 10,8

b) 2.8g (0.018 moles) de 6-nitro-3-fluoro tolueno fueron oxidados con una mezcla de CrO_3 (5.0g, 0.05 moles), anhídrido acético (28 ml, 0,3 moles), ácido acético (29ml) y ácido sulfúrico (7.8g, 0.075 moles) según la técnica de Org.Synth. (col.vol.II, página 441) (dos horas a -10°). La mezcla fué volcada sobre hielo y filtrada. El sólido blanco obtenido fué lavado con una solución fría de carbonato de sodio al 2% y fué calentado en baño de maría con condensador a reflujo con 10 ml de agua, 7 ml de HCl conc. y 1 ml de etanol. Después de una hora de calentamiento a reflujo, la mezcla fué volcada sobre hielo y agitada enérgicamente. Un precipitado de aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico impuro fué obtenido (0.45g, 15% de rendimiento). Punto de fusión, después de recristalizaciones con alcohol isopropílico: 91°. Esta substancia produce la misma semicarbazona y 2,4-dinitro fenil hidrazona que la substancia obtenida por nitración del aldehído m-fluoro benzoico (figuras 8 y 9)

Semicarbazona del aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico:

Laminillas amarillás brillantes, p.f. 286° (descomp.). Empieza a descomponerse a la temperatura de 255°.

$C_8H_7O_3N_4F$ requiere: C 42,50% hallado: C 42,68%
 H 3,14 H 3,32

2,4-Dinitro fenil hidrazona del aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico:

Cristales anaranjados, p.f. 253-257° (desc.).

Acido 4-nitro-3-fluoro benzoico:

A una mezcla de 4-nitro-3-fluoro tolueno (2.8g, 0.018 moles), ácido acético (29ml) y anhídrido acético (28 ml, 0.3 moles) enfriada con hielo, ácido sulfurico (7.8g, 0.075 moles) concentrado fué agregado con agitación. CrO_3 (5g, 0.05 moles) fué agregado después en pequeñas porciones de manera tal que la temperatura se mantuvo entre 5° y 10°. Después de una agitación de 10 minutos la mezcla

fué volcada en un vaso de precipitación que contenía hielo picado y fué agregada agua fría hasta un volumen total de 250 ml. El sólido resultante fué separado por filtración con succión, lavado con agua fría y suspendido en 25 ml de una solución fría de carbonato de sodio al 2% y agitado. Después de una buena agitación el sólido fué juntado en un filtro, lavado con agua y alcohol enfriados y fué calentado en baño María con condensador a reflujo con 10 ml de agua, 7 ml de HCl conc. y 1 ml de alcohol. Después de una hora de calentamiento a reflujo, la mezcla fué volcada sobre hielo y agitada enérgicamente. Se separó un aceite (2g) que al ser tratado con clorhidrato de semicarbazida y acetato de sodio en metanol acuoso dió un precipitado de semicarbazona del aldehído 4-nitro-3-fluoro benzoico, cristales amarillos (0.1 g) p.f. 207-210° (desc.) (diagrama de rayos X: figura 10). Los extractos alcalinos arriba obtenidos fueron neutralizados obteniéndose un precipitado de ácido 4-nitro-3-fluoro benzoico, cristales blancos solubles en agua, etanol, éter y benceno caliente. Insolubles en éter de petróleo y ciclohexano. P.f. 169-170°. Rendimiento 23% (0.76g.)

| | | | | | | |
|---------------|-----------|---|---------|----------|---|---------|
| $C_7H_4O_4NF$ | requiere: | C | 45.42 % | hallado: | C | 45.51 % |
| | | H | 2.18 | | H | 1.95 |

Eritro- β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinato de etilo:

a) 1.0g (0.01 mol) de alicinato de etilo y 3.4g (0.02 moles) de aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico fueron disueltos en 6 ml de metanol. La mezcla fué suavemente calentada hasta disolución total. Se obtuvo una solución de color amarillo intenso. Después de dejar en reposo durante un día, fué agregada una solución metanólica de ácido clorhídrico (7.5ml. conteniendo 0.72 g de HCl) y un exceso de éter. Se obtuvo un precipitado blanco cristalino de clorhidrato de eritro- β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinato de etilo (1.8g, 60% de rendimiento) que fué recristalizado en alcohol isobutílico P.f. 180-181° (desc.).

| | | | | | | |
|-------------------------|----------|---|--------|----------|---|--------|
| $C_{11}H_{14}O_5N_2FCl$ | requiere | C | 42.75% | hallado: | C | 42.59% |
| | | H | 4.57 | | H | 4.64 |

1.0f (0.033 moles) de esta sal fué puesta en cloroformo y amoníaco fué burbujeado a través de la solución. El cloruro de amonio obtenido fué separado por filtración, el cloroformo extraído por destilación y el residuo de eritro- β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinato de etilo (0.72, 80% de rendimiento) fué recristalizado en

alcohol isobutílico. Punto de fusión: 107°.

| | | | |
|--------------------------------|----------|---------|----------|
| $C_{11}H_{13}O_5N_2F$ requiere | C 48.5 % | hallado | C 48.8 % |
| | H 4.82 | | H 5.17 |

b) Glicinato de etilo (2.1g, 0.02 moles) y aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico (3.4g, 0.02 moles) fueron sujetos a destilación azeotrópica en benceno hirviendo (50 ml). Después de 4 horas el solvente fué destilado y el residuo fué tratado con una solución metanólica de ácido clorhídrico (14.4 ml, conteniendo 1.44g de HCl) y un exceso de éter. Se obtuvo un aceite que se solidifica parcialmente en reposo y fué recristalizado en alcohol isobutílico: clorhidrato de eritro- β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinato de etilo (3.2g, 52% de rendimiento). P.f. 180-181°.

2.0g (0.066 moles) de esta sal fué puesta en cloroformo y amoníaco fué burbujeado a través de la solución. El cloruro de amonio obtenido fué separado por filtración, el cloroformo extraído por destilación y el residuo de eritro- β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinato de etilo (1.55g, 85% de rendimiento) fué recristalizado en alcohol isobutílico. p.f. 107°.

| | | | |
|---------------------------------|----------|----------|----------|
| $C_{11}H_{13}O_5N_2F$ requiere: | C 48.5 % | hallado: | C 48.9 % |
| | H 4.82 | | H 4.86 |

Treo- β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinato de etilo:

2.1g (0.02 moles) de glicinato de etilo y 3.4g (0.02 moles) de aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico fueron mezclados con agitación a la temperatura ambiente. Se formó un aceite rojizo con desarrollo de calor. La mezcla fué agitada durante 20 minutos a la temperatura ambiente y después se agregó éter. Apareció un precipitado blanco (2.5g, 45% de rendimiento) que fué recristalizado en alcohol isopropílico. p.f. 126-127°

| | | | |
|---------------------------------|----------|----------|----------|
| $C_{11}H_{13}O_5N_2F$ requiere: | C 48.5 % | hallado: | C 48.9 % |
| | H 4.82 | | H 4.74 |

A 2.7 g de este éster, 7.2 ml (conteniendo 0.72 g de HCl) se agregó una solución metanólica de ácido clorhídrico. Después del agregado de un exceso de éter apareció un precipitado blanco de clorhidrato de treo- β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinato de etilo (2.8 g, 90% de rendimiento). Recristalizado en alcohol isobutílico, punto de fusión: 182-184° (dec.)

$C_{11}H_{14}O_5N_2FCl$ requiere: C 42.75 % hallado: C 42.77%
 H 4.57 H 4.67

Eritro - β - (6-nitro-3-fluoro-fenil)-serina:

A 0.62g (0.002 moles) de clorhidrato de eritro- β - (6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinato de etilo, 4 ml (2 equiv.-mol.) de hidróxido de sodio N fueron agregados. Un poco de alcohol fué añadido hasta que la disolución fué completa y la solución fué mantenida a temperatura ambiente durante una hora, agitándola ocasionalmente. Entonces 2 ml de HCl N fueron añadidos. El precipitado blanco formado fué recristalizado en una mezcla de metanol y agua 0.44g (80% de rend.) P.f. 187-188° g

$C_9H_9O_5N_2F$ requiere: C 42.50 % hallado: C 42.46%
 H 3.6 H 4.1
 F 7.78 F 7.4

Treo- β - (6-nitro-3-fluoro-fenil)-serina:

A 0.62 g (0.002 moles) de clorhidrato de treo- β - (6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinato de etilo fueron agregados 4 ml (2 equiv.-mol) de solución normal de hidróxido de sodio. Un poco de alcohol se añadió a la mezcla para completar la disolución y la solución fué mantenida a la temperatura ambiente durante una hora, agitándola de vez en cuando. Entonces fué neutralizado con 2 ml de HCl N. El precipitado blanco fué recristalizado en metanol acuoso. 0.42g (86% de rendimiento). P.f. 194-196°

$C_9H_9O_5N_2F$ requiere: F 7.78% hallado: F 7.75%

α - (p-nitrobencilidenamino)-fenilacetato de etilo: (LXX, página 72)

Clorhidrato de α -amino-fenilacetato de etilo fué suspendido en cloroformo y amoníaco gaseoso fué burbujeado a través de la suspensión durante 30 minutos. Después de la filtración y concentración de la solución, el éster libre obtenido fué destilado al vacío (P.eb. 99-101° a 15 mm). 1.8g (0.01 mol) de éster recientemente destilado y 3.0g (0.02 moles) de aldehído p-nitro benzoico fueron disueltos en 13 ml de alcohol metílico con breve calentamiento. Apareció una coloración azul-violácea y después de un reposo de un día un precipitado blanco cristalino (2.5g, 80% de rendimiento) en aguas madres amarillas fué obtenido. Después de dos recristalizaciones en metanol y etanol respectivamente, p.f. 77.5° (Esta subs-

tancia se descompone al ser tratado con ácido clorhídrico en solución metanólica produciendo otra vez el aldehído p-nitro benzoico y el clorhidrato de α -aminofenilacetato de etilo).

| | | | | |
|----------------------|-----------|----------|----------|----------|
| $C_{17}H_{16}O_4N_2$ | requiere: | C 65.37% | hallado: | C 65.26% |
| | | H 5.16 | | H 4.89 |

γ -ftalimido-crotonato de metilo: (LXXXII, página 78)

Se agregaron 9.3 g (0.05 moles) de ftalimido de potasio a una solución de 9.0 g (0.05 moles) de γ -bromo-crotonato de metilo disueltos en 70 ml de dimetilformamida. La temperatura fué aumentándose espontáneamente hasta llegar a 50° en 5 minutos (reacción exotérmica). Se mantuvo la mezcla con agitación durante 2 horas, la temperatura descendió lentamente hasta 20°. Después de este lapso, 90 ml de cloroformo fueron agregados y la mezcla fué volcada sobre 250 ml de agua. La fase acuosa fué separada y extraída con cloroformo. Los extractos cloroformicos juntos se lavaron con una solución de hidróxido de sodio al 0.2% y con agua después de ser desecados con sulfato de sodio, el cloroformo fué evaporado. Se trituró al residuo con 50 ml de éter obteniéndose después por filtración un residuo de 8.2 g (67 % de rendimiento) de γ -ftalimido-crotonato de metilo. P.f. 97° (según (192) el p.f. es de 100° (corr.)).

(Los experimentos de condensación hechos con el (γ -fenilacetamido)-crotonato de etilo (LXXXIV) y con la 2(5H)-pirrolona se hallan descritos en las páginas 71-75).

Aldehído 2-cloro-4-nitrobenzoico: (página 80)

a) 2-Cloro-4-nitro-tolueno: Una corriente moderada de cloro seco se burbujeó a través de una mezcla de p-nitrotolueno (5g) y cloruro férrico (2g) bajo la acción de los rayos solares a una temperatura de 55-60° hasta que la mezcla reactante mostró un aumento de peso de 128g. Esto requirió dos horas aproximadamente. El producto así obtenido ha sido volcado en 21 ml de agua fría y el precipitado ha sido filtrado, lavado con agua fría y secado (60.5g, 96.5% de rendimiento). Después de una recristalización en etanol (60ml) se obtuvieron 43.5g (68.5% de rendimiento) de agujas blancas de 2-cloro-4-nitrotolueno de p.f. 60-61° (Sheffield (199) informó 62.5°)

b) Bromuro de 2-cloro-4-nitro-bencilo: Una mezcla de 13.8g (0.08 moles) de 2-cloro-4-nitrotolueno, de 14.3 g (0.08 moles) de

N-bromo-succinimida finamente molida, de 0.2 g de peróxido de dibenzoylo y de 100 mol de tetracloruro de carbono seco fué calentada suavemente a reflujo hasta que toda la N-bromo-succinimida desapareció (alrededor de 3 horas). Después de un corto reposo la succinimida (8.2g) fué separada por filtración y lavada con tetracloruro de carbono seco. Del filtrado se eliminó el solvente por destilación y el aceite amarillo resultante se cristalizó al enfriarse (9.8g'. Después de un recristalización en etanol (5ml) se obtuvieron cristales blancos de p.f. 47-48° (Tieman(201) informó 49-50°) (8.8g, 43.7% rendimiento).

c) Aldehído 2-cloro-4-nitro benzoico: 5.0g de bromuro de 2-cloro-4-nitro-bencilo se calentaron a reflujo con una solución acuosa de nitrato de plomo (18g en 300 ml) durante 35 horas. La mezcla fué enfriada, filtrada a vacío y el filtrado lavado con éter frío cinco veces. Con el mismo éter se hicieron extracciones del filtrado acuoso. Los extractos de éter se lavaron con solución saturada de bicarbonato de sodio y se secaron con sulfato de sodio. El éter se evaporó y el aceite amarillo resultante se solidificó al ser enfriado bruscamente. Recristalizada de ligroína, el aldehído 2-cloro-4-nitro-benzoico forma agujas largas incoloras de p.f. 79° (Tieman (201) informó 79°). Se obtuvieron 3.05 g (82.4% de rendimiento).

N-(2-hidroxi-5-clorobencilideno)-glicinato de etilo:

Una mezcla de glicinato de etilo (1.1g) y de aldehído 2-hidroxi-5-cloro benzoico (1.1g) dió una reacción débilmente exotérmica. Se formó una solución que pronto se solidificó en una masa amarillada. Tres horas después se agregaron 6 ml de éter absoluto y la mezcla se enfrió a 0° y el precipitado fué separado por filtración (0.6g). Recristalización en benceno (5 ml) dió agujas amarillas de p.f. 85-86°

$C_{11}H_{12}O_3NCl$ requiere: Cl 14.7% hallado: Cl 15.0%

Eritro-N-(p-cianobencilideno)- β -cianofenilserinato de etilo:

Una solución de aldehído p-ciano benzoico (1.3 g, 0.01 mol) y glicinato de etilo (0.5g, 0.005 moles' en metanol (4 ml) se mantuvo a la temperatura ambiente durante 4 días y después se enfrió a 1°. El producto de la condensación fué separado (0.75 g, 44.6%) y recristalizado en n-butanol (7 ml) obteniéndose agujas incoloras

(0.5 g) p.f. 129°.

| | | | | |
|----------------------|-----------|-----------|----------|-----------|
| $C_{20}H_{17}O_3N_3$ | requiere: | C 69.16 % | hallado: | C 68.90 % |
| | | H 4.90 | | H 4.98 |

Las aguas madres de cristalización de la precedente base de Schiff al ser tratadas con una solución alcohólica 3N de HCl (2 ml) y con éter seco (5 0 ml) dieron un aceite amarillento que cristaliza lentamente. (Evaporando al vacío el filtrado se recuperaron 0.2g del aldehído p-ciano-benzoico). El precipitado obtenido (0.55g) fué tres veces recristalizado en alcohol butílico, M.p. 149-150° (descomp.), no produjo depresión en el punto de fusión del treo-β -cianofenilserinato de etilo

Clorhidrato de eritro-β -p-cianofenilserinato de etilo:

A una suspensión en etano de 0.6 g de la precedente base de Schiff (eritro-N-(p-cianobencilideno)-β -cianofenilserinato de etilo) en 3 ml de etanol se agregó 1 ml de solución alcohólica 3N de HCl. Cuando la disolución fué completa se agregaron 15 ml de éter absoluto y el precipitado blanco (0.2 g) obtenido fué separado y recristalizado en alcohol butílico (13 ml). El clorhidrato del éster forma hojuelas incoloras de p.f. 170-171° (descomp.) (0.15 g)

| | | | | |
|------------------------|-----------|-----------|----------|----------|
| $C_{12}H_{15}O_3N_2Cl$ | requiere: | C 53.23 % | hallado: | C 53.23% |
| | | H 5.55 | | H 5.30 |

Treo-β -p-cianofenilserinato de etilo:

1/3 g (0.01 mol) del aldehído p-ciano benzoico reaccionó exotérmicamente con 1.5 g (0.015 moles) de glicinato de etilo dando lugar a un líquido pardo viscoso que después de un reposo de dos horas empezó a cristalizarse. Se mantuvo a la temperatura ambiente durante dos horas empezó a cristalizarse. Se mantuvo a la temperatura ambiente durante 20 horas y se agregó 7.5 ml de éter absoluto con agitación violenta, y se dejó reposar la suspensión en la heladera durante 5 horas. El treo-β -p-cianofenilserinato de etilo obtenido (0.6g) fué recristalizado en benceno (16 ml). Plaquetas, p.f.119). (0.4 g)

| | | | | |
|----------------------|-----------|-----------|----------|-----------|
| $C_{12}H_{14}O_3N_2$ | requiere: | C 61.54 % | hallado: | C 61.38 % |
| | | H 5.98 | | H 5.78 |

Las aguas madres de cristalización de treo-β -p-cianofenilserinato de etilo al ser tratadas con HCl alcohólico 3N (5 ml) y con

un exceso de éter anhidro dieron un aceite que se solidificó parcialmente al estar en reposo durante una noche. Después de ser separado el sólido (que luego de dos recristalizaciones en dioxano resultó ser idéntico con el clorhidrato de glicinato de etilo) el aceite fué inducido a cristalizarse con un poco de butanol y raspado de las paredes con una varilla de vidrio, (0.005g). Recristalización en butanol (2 ml) dió hojuelas incoloras p.f. 164° (d.) Tanto este punto de fusión, como el punto de fusión de una mezcla con substancia conocida indican que la substancia obtenida es el clorhidrato de eritro-β -p-cianofenilserinato de etilo arriba descrito. La cantidad obtenida fué demasiado pequeña para poder efectuar más recristalizaciones hasta obtener punto de fusión constante.

Clorhidrato de treo-β -p-cianofenilserinato de etilo:

0.5 ml de una solución alcohólica 3N de HCl se agregó a una suspensión de 0.2 g de treo-β -cianofenilserinato de etilo (compuesto precedente) en 2 ml de alcohol. El clorhidrato fué precipitado por la adición de 40 ml de éter anhidro (Rendimiento:0.2g). Recristalización en 5 ml de butanol dió cristales incoloros de p. f. 154° (descomp.)

| | | | | |
|------------------------|-----------|-----------|----------|-----------|
| $C_{12}H_{15}O_3N_2Cl$ | requiere: | C 53.83 % | hallado: | C 53.31 % |
| | | H 5.55 | | H 5.91 |

β -o-Nitrofenilserinato de etilo: ?

Al mezclarse 2 g de glicinato de etilo con 2 g de aldehído o-nitro benzoico se obtuvo una solución amarilla rojiza y un pequeño desprendimiento de calor. La solución gradualmente se fué poniendo más viscosa y de un color rojo oscuro. Se mantuvo a la temperatura ambiente durante 20 horas (17-20°) y se agregó un poco de éter anhidro. La masa semisólida obtenida (0.7 g) fué recristalizada en benceno y dioxano obteniéndose agujas blancas con punto de fusión de 120° (0.001 g).

Clorhidrato de β -o-nitrofenilserinato de etilo:

A las aguas madres de substancia precedente (β -o-nitrofenilserinato de etilo), se agregaron 4 ml de una solución alcohólica 3N de HCl y 40 ml de éter anhidro. Se separó un aceite anaranjado rojizo que se solidificó en frío. Rendimiento: 0.3 g.

Punto de fusión: 164° (descomp.)

| | | | | |
|------------------------|-----------|-----------|----------|----------|
| $C_{11}H_{15}O_5N_2Cl$ | requiere: | C 45.42 % | hallado: | C 45.58% |
|------------------------|-----------|-----------|----------|----------|

$C_{18}H_{17}O_7N_3$ requiere: H 4.39% hallado H 4.10%

Cuando las aguas madres de esta base de Schiff, o la mezcla reactante arriba preparada, fué tratada con una solución alcohólica concentrada de HCl y con un exceso de éter seco, dieron cristales de clorhidrato de β - α -nitrofenilserinato de etilo. Recristalizados en propanol p.f. 164° (descomp.). Mezclados con el clorhidrato del éster arriba obtenido el punto de fusión fué el mismo.

Clorhidrato de dl-norvalina: (LXXVII, página 79)

8g (0.05 moles) de ácido dl- α -acetamido valérico (LXVI) (preparado a partir del acetamidomalonato de dietilo según Snyder etal. (196) fueron calentados a la temperatura de reflujo con 40 ml de HCl al 10% durante 6 horas. El agua fué extraída por destilación al vacío con una aplicación mínima de calor, quedó un residuo cristalino de 6.8 g (88 % de rendimiento). Recristalizado en alcohol absoluto p.f. 215° (descomp.)

Clorhidrato de dl-normalinato de metilo: (LXXVIII)

20 g de la substancia precedente (LXXVII) fueron suspendidos en 250 ml de metanol, la mezcla fué saturada con HCl seco y calentado a reflujo durante tres horas. Concentraciones repetidas al vacío produjeron un jarabe que fué reesterificado dos veces mas por el mismo procedimiento. Evaporaciones repetidas al vacío con acetona originaron un producto parcialmente cristalizado.. El clorhidrato crudo así obtenido no fué purificado sino enseguida fué convertido en el éster libre LXXXIX (ver abajo).

dl-Norvalinato de metilo: (LXXXIX)

El clorhidrato de dl-norvalinato de metilo crudo (LXXXIII) (substancia precedente) se suspendió en cloroformo y se burbujeó amoníaco gaseoso seco a través de la mezcla durante 30 minutos. El cloruro de amonio fué separado por filtración, el cloroformo evaporado y el residuo de éster fué destilado al vacío (44° a 15 mm). Líquido incoloro de olor característico que polimeriza espontáneamente en reposo. 8.5g (50 % de rendimiento calculado sobre LXXVII)/

Clorhidrato de dl-norleucinato de metilo:

10 g de dl-norleucina comercial fué suspendida en 125 ml de metanol, la mezcla fué saturada con HCl seco y calentada a reflujo

durante tres horas. Concentraciones repetidas al vacío produjeron un jarabe que fué reesterificado dos veces más por el mismo procedimiento. Evaporaciones repetidas al vacío con acetona originaron un producto parcialmente cristalizado. El clorhidrato crudo así obtenido no fué purificado sino fué convertido enseguida en el éster libre. (Compuesto siguiente)

dl-Norleucinato de metilo :

El clorhidrato de dl-norleucinato de metilo crudo (compuesto precedente) se suspendió en cloroformo y se burbujó amoníaco seco a través de la mezcla durante 30 minutos. El ClNH_4 fué separado por filtración, el cloroformo evaporado y el residuo de éster fué destilado (69° a 3.8mm). Líquido incoloro que polimeriza espontáneamente en reposo, 4.57g (50% de rendimiento calculado sobre dl-norleucina). (Ensayos de condensación, ver página 73).

Eritro-N-(p-nitrobencilideno)- α -amino- α -(p-nitro- α -hidroxibencil)-valerato de metilo : (LXXXIII, página 74)

1.3g (0.01 mol) de norvalinato de metilo recientemente destilado y 3.0g (0.02 moles) de aldehído p-nitro benzoico fueron disueltos en 6 ml de metanol con la ayuda de un calentamiento breve y la solución se mantuvo expuesta a la acción de los rayos solares durante dos semanas. El solvente fué evaporado y el aceite oscuro resultante se guardó en la heladera durante varios días. Se obtuvo una masa semicristalina, se trituró con un poco de éter y se filtró. Los cristales fueron recristalizados en alcohol isopropílico. Cristales blancas amarillentas, p.f. 130°. 1.9g (46% de rendimiento).

| | | | | |
|--|-----------|-----------|----------|-----------|
| $\text{C}_{20}\text{H}_{21}\text{O}_7\text{N}_3$ | requiere: | C 57.83 % | hallado: | C 57.72 % |
| | | H 5.10 | | H 5.03 |

Treo- β -(5-cloro-2-benciloxifenil)-serina : (XXIX, tabla 3)

A una solución de 2.8g (0.05 moles) de KOH en 40 ml de alcohol absoluto se agregaron 1.9g (0.025 moles) de glicina y 12.3g (0.05 moles) de aldehído O-bencil-5-cloro salicílico. La mezcla fué calentada durante 10 minutos y después dejada en reposo durante la noche. El día siguiente la mezcla reactante fué acidificada con HCl 1:1, filtrada y el líquido filtrado precipitado con amoníaco. Se recristalizó la sustancia obtenida disolviéndola en alcohol y precipitándola mediante el agregado de agua. Cristales amarillos, p.f. 157-158°, 7.6g (94% de rendimiento).

$C_{16}H_{16}O_4NCl$ requiere: C 59.72 % hallado: C 59.75 %
H 5.00 H 5.19

Treo-N(p-clorobencilideno)-p-clorofenilserina: (XIII^c, página 46
tabla 3)

Se disolvieron 3.75 g (0.05 moles) de glicina en una solución de 5.61 g (0.1 mol) de KOH en 75 ml de alcohol absoluto. A esta solución se agregó una solución de 14.1 g (0.1 mol) de aldehído p-cloro benzoico en 50 ml de alcohol absoluto. Se calentó la mezcla brevemente y se lo dejó reposar. Al día siguiente la mezcla fué filtrada y el precipitado blanco obtenido fué disuelto en 200 ml de HCl 2N y extraído dos veces con éter. Neutralizando la solución resultante con amoníaco apareció un precipitado blanco. Soluble en solventes orgánicos e insoluble en agua. Recristalizado en una mezcla de metanol y agua, p.f. 126-128° (descomp.). 0.25 g (1.5% de rendimiento).

$C_{16}H_{13}O_3Cl_2N$ requiere: Cl 21.0% hallado: Cl 21.3%

Fluoroacetato de sodio:

Se obtuvo a partir de fluoroacetato de etilo (261)(281) según Blank (281). 244 g (2.5 moles) de monofluoroacetato de etilo se agregaron a una solución de 100 g (2.5 moles) de NaOH en 500 ml de alcohol absoluto lentamente y con agitación. El precipitado fué filtrado, lavado con alcohol absoluto y con éter y secado a 120°, 233 g (93 % de rendimiento).

Acido fluoroacético:

50g (0.5 moles) de fluoroacetato de sodio (compuesto precedente) se mezclaron en un aparato de destilación Claisen con 100 ml de ácido sulfúrico concentrado. La mezcla fué agitada y calentada suavemente hasta disolución. Por destilación se obtuvieron 38 g (98% de rendimiento) (82-100° a 30-35 mm). El producto crudo se redestiló a la presión atmosférica, 167-169°. (Saunders y Stacey (267) informaron 167-168.5°) 37.1g (95 % de rendimiento).

Anhidrido fluoroacético:

42 g (0.42 moles) de fluoroacetato de sodio y 38.7 g (0.4 moles) de cloruro de fluoroacetilo (obtenido a partir del ácido fluoroacético con pentacloruro de fósforo según Saunders y Stacey (267) fueron puestos en un aparato de destilación de Claisen que contenía 150 ml de aceite mineral y la mezcla fué homogeneizada por agitación. El aceite mineral usado, previamente fué calentado hasta

200° a 30 mm de vacío. Se calentó la mezcla a reflujo en un baño de aceite a 110-120° durante una hora y media y el contenido se destiló bajo presión reducida, juntándose todo el destilado en una sola fracción, hasta 116° (30-45°). Al ser redestilado, la mayor parte del líquido pasó a la temperatura de 90-98° a 20 mm. (Saunders y Stacey informaron 88-89° a 12 mm) 44.4g (88% de rendimiento).

Acido α -fluoro cinámico: (LXXXVª página 83)

a) Una mezcla de 16 g (0.15 moles) de aldehído benzoico recientemente destilado, 15 g (0.15 moles) de fluoroacetato de sodio secado a 120° y 20.8 g (0.15 moles) de anhídrido fluoroacético fué calentada a 180° a reflujo (con condensador de aire cerrado con tubo de cloruro de calcio) durante 8 horas. Se observó desprendimiento de HF. Se separó al aldehído benzoico no reaccionado por destilación con arrastre de vapor. Dejando el residuo líquido de reacción ácida en reposo, se obtuvieron lentamente cristales de ácido α -fluoro cinámico (1.0 g, 2% de rendimiento). Purificado por sublimación, p.f. 157° ; (Swarts (226) halló p.f. 157.6°, este compuesto fué obtenido por Swarts a partir del aldehído benzoico y fluoroacetato de metilo con sodio metálico a 0°).

(Espectro de absorción en el ultravioleta : figura 17, página 85).

| | | |
|------------------------|-----------|--------------------|
| $C_9H_7O_2F$ requiere: | C 65.00 % | hallado: C 64.64 % |
| | H 4.27 | H 4.31 |

b) Se preparó una mezcla de 31.8g (0.3 moles) de fluoroacetato de etilo y 100 ml de éter absoluto. (El éter usado en las reacciones con hidruro de sodio fué secado con NaH especialmente para ese propósito). En un balón de tres bocas bien seco equipado con condensador a reflujo, agitador mecánico y embudo de decantación, el aire fué desplazado con una corriente de nitrógeno. 25 ml de éter absoluto y 7.2 g (0.3 moles) de NaH se colocaron rápidamente en el balón y se agregaron 40 ml más de éter para juntar al NaH de las paredes. A continuación se agregó lentamente y con agitación vigorosa la mezcla arriba preparada de aldehído benzoico, fluoroacetato de etilo y éter. Se continuó la agitación hasta que no hubo más formación de hidrógeno (8 horas). 14 ml (0,3 moles) de alcohol absoluto fueron luego agregados lenta y cuidadosamente para

descomponer el hidruro de sodio que eventualmente haya quedado sin reaccionarse y la mezcla fué acidificada con HCl 1:1. La capa acuosa fué separada, extraída con éter y descartada. Los extractos etéreos se juntaron con la capa etérea y la solución resultante fué extraída con NaHCO_3 al 10%. Neutralizando a los extractos alcalinos con HCl se obtuvo un aceite que cristalizó parcialmente en reposo. La sustancia cristalina resultó ser ácido α -fluoro cinámico (7.5 g, 15% de rendimiento) impurificado con cristales de ácido cinámico y ácido benzoico. De la solución etérea se obtuvieron por destilación 6.5 g de benzoato de etilo y 8.2g de 2,4-difluoroacetoacetato de etilo (LXXXVI, página 83) Punto de ebullición: 99-101° a 20 mm (McBee (214) informó 71-72° a 3 mm). No ha sido posible fraccionar a la tercera fracción obtenida en la destilación (de 50° hasta 200° a 0.4 mm) pero al ser tratada con 2,4-dinitrofenilhidrazina dió un precipitado amarillo (0.6g) que recristalizado en una mezcla de acetato de etilo y etanol tiene p.f. 197-203°. Ensayos cualitativos demuestran que contiene fluor. 2,4-dinitrofenilhidrazona del aldehído α -fluoro-cinámico (LXXXVI a) :
 $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{O}_4\text{N}_4\text{F}$ requiere: C 54.54 % hallado: C 54.57%
 H 3.36 H 3.84

En otro experimento se agitó a la mezcla reactante durante seis horas, y se agitó a la mezcla reactante durante seis horas, y el agregado del alcohol y del ácido clorhídrico se hizo enfriando la mezcla con acetona y anhídrido carbónico sólido. El ácido α -fluoro cinámico así obtenido en este caso fué más puro pero el rendimiento no fué mayor y el líquido contenía las mismas fracciones que en el experimento anterior.

α -fluoro-cinamato de etilo:

10 g (0.06 moles) de ácido α -fluoro cinámico crudo (compuesto precedente b), 80 ml de etanol y 4 ml de ácido sulfúrico concentrado se calentaron a reflujo durante 4.5 horas. Se agregó éter y se hicieron extracciones con agua y luego con carbonato de sodio 2N. Se acidificó la solución acuosa alcalina con HCl obteniéndose 2.0 g (20 % de la cantidad inicial) de ácido α -fluoro cinámico.

La solución etérea fué lavada con agua hasta obtener lavados de reacción neutra. El éter fué evaporado y el residuo destilado en un aparato de Claisen. 7.0 g (60 % de rendimiento) de α -fluoro-

ocinamato de etilo se ha obtenido (72-77°, 0.3 mm). El punto de ebullición después de dos redestilaciones es de 79-82° a (0.35 mm). Índice de refracción a 19°: n_D^{19} : 1.5444 (índice de refracción del cinamato de etilo: 1.5598). Fué imposible obtener, sin usar columna de destilación adecuada, una fracción mas neta de destilado debido probablemente a la presencia de cinamato de etilo originado de las impurezas del ácido α -fluoro cinámico crudo usado (ver compuesto precedente). Esto explica quizás el valor alto de carbono obtenido en el análisis:

| | | | |
|------------------------------|-----------|----------|-----------|
| $C_{11}H_{11}O_2F$ requiere: | C 68.00 % | hallado: | C 69.50 % |
| | H 5.71 | | H 5.94 |

1-fluoro-1-carboxi-4-fenil butadieno: (XXXVII, página 85)

19.8 g (0.15 moles) de aldenido cinámico recientemente destilado se condensó con 15.9 g (0.15 moles) de fluoroacetato de etilo en presencia de 3.6 g (0.15 moles) de hidruro de sodio en éter absoluto con la técnica experimental descrita en el compuesto LXXXV (página 112). La mezcla se mantuvo a la temperatura de reflujo con agitación durante 16 horas y después se agregó con cuidado el ácido clorhídrico diluido (0.15 moles en 50 ml de agua). La fase etérea se extrajo con una solución de carbonato de sodio al 10% / acidificando el extracto acuoso alcalino se obtuvieron 4 g (14 % de rendimiento) de LXXXVII. Cristales blancos, solubles en alcohol, éter y agua caliente. Después de dos purificaciones por sublimación a 140° y 2 mm de mercurio: p.f. 192,5-193° (Espectros de absorción en el infrarrojo y en el ultravioleta, ver figuras 18 y 20, página 85-87)

| | | | |
|---------------------------|-----------|----------|-----------|
| $C_{11}H_9O_2F$ requiere: | C 68.75 % | hallado: | C 69.11 % |
| | H 4.68 | | H 4.77 |
| | F 9.89 | | F 9.8 |

1-Fluoro-1-carboxi-4-fenil-butadieno: (LXXXVIII, página 85)

La solución neutra etérea obtenida en el compuesto anterior (LXXXVII) fué secada con sulfato de sodio anhidro, el éter, evaporado y el residuo fué destilado al vacío (0.9 mm , 90-119°) obteniéndose un aceite amarillento que solidifica por reposa en la heladera dando 6.7 g (20% de rendimiento) de un sólido blanco, p.f. 37-43°. Después de un redestilación (0.75 mm, 119°), sólido blanco, p.f. 38-42°, se descompone lentamente en reposo. (Espectro de absorción en el infrarrojo, ver figura 19, página 87)

| | | | | | |
|------------------------------|-----------|---------|----------|-----------|---------|
| $C_{13}H_{13}O_2F$ requiere: | C | 70.91 % | hallado: | C | 71.24 % |
| | H | 5.91 | | H | 6.05 |
| | F | 8.6 | | F | 6.1 |
| | p.mol. | 220 | | p.mol. | 190 |
| | OC_2H_5 | 20.4 | | OC_2H_5 | 16.9 |

Este compuesto (L XXXVIII) fué saponificado con NaOH alcohólico. Después de un breve calentamiento precipitó la sal sódica que disuelta en agua dió por acidificación de la solución con HCl el compuesto : 1-fluoro-1-carboxi-4-fenil butadieno (LXXXVII)

Acido p-nitro- α -fluoro cinámico: (LXXXIX, página 86)

5 g (0.033 moles) de aldehído p-nitro benzoico, 4.5 g (0.045 moles) de fluoroacetato de sodio (secado a 120°) y 9.4 g (0.068 g) de anhídrido fluoroacético se calentaron en un baño de aceite a 180° y después se mantuvieron a la temperatura de 145° durante 13 horas (condensador a reflujo enfriado con aire cerrado con tubo de cloruro de calcio). Una vez enfriada la mezcla se extrajo con una solución de 2 ml de amoníaco (d: 0.9) en 15 ml de agua. Se repitió la extracción dos veces más y los extractos juntados se volcaron en ácido sulfúrico (4.5 ml, d: 1.84 en 50 ml de agua) Apareció un precipitado amarillento, 0.9 g (13 % de rendimiento). Purificado por sublimación a 170° y 0.9 mm. Cristales blancos, p.f. 200-202°. (espectros de absorción en el infrarrojo y en el ultravioleta, figuras 21 y 23, página 88).

| | | | | | |
|-------------------------|---|---------|----------|---|--------|
| $C_9H_6O_4NF$ requiere: | C | 51.15 % | hallado: | C | 49.5 % |
| | H | 2.84 | | H | 2.96 |
| | N | 6.64 | | N | 6.68 |
| | F | 9.0 | | F | 9.5 |

Acido 1-fluoro-2-hidroxi-2-(o-clorofenil) pro iónico: (XC, página 87)

Se efectuó la reacción de 2170 g (0.15 moles) de aldehído o-cloro benzoico con 15.9 g (0.15 moles) de fluoroacetato de etilo en presencia de 3.6 g (0.15 moles) de HNa en éter absoluto con la misma técnica experimental que la descripta en el compuesto LXXXV (página 112). Se agitó la mezcla durante 8 horas y después se agregó cuidadosamente 15 ml de alcohol absoluto y se acidificó la mezcla con una solución de 30 ml de ácido sulfúrico concentrado en 50 ml de agua. Se extrajo la capa eterea con una solución de sar-

bonato de sodio al 10% y el extracto alcalino resultante se acidificó con HCl. Apareció un precipitado blanco (4.8 g, 14.6% de rendimiento) que recristalizado en agua y después en benceno dió laminillas blancas de p.f. 136.0° (secado con P₂O₅ durante dos horas y media a 110°).

(Espectro de absorción en el infrarrojo, figura 24, página 89)

| | | | | | | |
|--|-----------|----|--------|----------|----|--------|
| C ₉ H ₈ O ₃ ClF | requiere: | C | 49.3 % | hallado: | C | 47.5 % |
| | | H | 3.71 | | H | 4.3 |
| | | Cl | 16.23 | | Cl | 16.2 |
| | | F | 8.69 | | F | 8.7 |

Acido 4, β -dicloro cinámico: (XCIII, página 90)

4.7 g (0.033 moles) de aldehído p-cloro benzoico, 4.5 g (0.045 moles) de fluoroacetato de sodio (desecado a 120°) y 9.0 g (0.066 moles) de anhídrido fluoroacético se calentaron a 160°, con refrigerante al aire a reflujo cerrado con tubo de cloruro de calcio, durante 14 horas. Se enfrió la mezcla y se hicieron extractos con una solución de carbonato de sodio al 10% y se acidificaron los extractos alcalinos con HCl. El precipitado aparecido durante la acidificación fué decolorado con carbón animal en solución alcohólica y después vuelto a precipitarse por agregado de agua. Cristales blancos, 0.8 g (11% de rendimiento). Purificado por sublimación 120° y 1.5 mm presenta p.f. 184-186°.

| | | | | | | |
|--|-----------|----|--------|----------|----|--------|
| C ₉ H ₆ O ₂ Cl ₂ | requiere: | C | 49.8 % | hallado: | C | 51.6 % |
| | | H | 2.8 | | H | 3.2 |
| | | Cl | 32.7 | | Cl | 30.9 |

Acido 1,3(m-nitrofenil)-1,3(dihidroxi)-2-fluoro isobutanoico:
(XCIV, pag. 91)

5.0 g (0.033 moles) de aldehído m-nitro benzoico, 4.5 g (0.045 moles) de fluoroacetato de sodio (desecado a 120°) y 9.4 g (0.068 moles) de anhídrido fluoroacético se calentaron hasta 180° y después se mantuvieron durante 10 horas a 145° en un balón con condensador a reflujo cerrado con tubo de cloruro de calcio. Se extrajo luego la mezcla con una solución de carbonato de sodio al 10 % y los extractos alcalinos se neutralizaron con HCl. Aparecieron 2.1 g (33% de rendimiento) de precipitado blanco, purificados por sublimación (0.9 mm, 155°) p.f. 173-176°.

(Espectro de absorción en el infrarrojo, figura 25, página 91)

| | | | | |
|----------------------|-----------|----------|----------|----------|
| $C_{16}H_{13}N_2O_8$ | requiere: | C 48.5 % | hallado: | C 49.2 % |
| | | H 3.37 | | H 3.24 |
| | | N 7.1 | | N 7.35 |
| | | F 4.8 | | F 5.5 |

1.4 Di m-nitrofenil butadieno ? : (XCV, página 92)

15.1 g (0.1 mol) de aldehído m-nitro benzoico, 7.8 g (0.1 mol) de ácido fluoracético, 50 ml de piridina y 1.25 ml de piperidina se calentaron a reflujo durante 7 horas. Se eliminó el solvente por evaporación y se agregó alcohol isopropílico al residuo. Una substancia cristalina de reacción neutra precipitó lentamente. 2.5g (16.7% de rendimiento).

Soluble en caliente en acetona, xilol y cloroformo. Insoluble en agua, alcohol, éter, alcohol isopropílico y en HCl y en carbonato de sodio diluidos. Recristalizado en xilol caliente y luego en cloroformo caliente p.f. 243°. No contiene fluor. (Espectro de absorción en el ultravioleta, figura 26, página 92).

| | | | | |
|----------------------|-----------|----------|----------|----------|
| $C_{16}H_{12}O_4N_2$ | requiere: | C 64.8 % | hallado: | C 64.3 % |
| | | H 4.0 | | H 3.7 |
| | | N 9.4 | | N 8.1 |

α - (m-NitroBencilideno) β -etoxi- β -hidroxi- β - (m-nitrofenil)propiolactona: (XCVI, página 93)

a) Se efectuó la reacción del aldehído m-nitro benzoico (38 g, 0.25 moles) con el fluoroacetato de etilo (38 g, 0.25 moles) en presencia de hidruro de sodio (7.2 g, 0.3 moles) en éter absoluto con la técnica descrita en la preparación del compuesto LXXXV (página 112). La mezcla fué agitada a la temperatura ordinaria durante 11 horas y después se agregaron a la mezcla con cuidado 4 ml (0.3 moles) de alcohol absolute y se acidificó con 30 ml de HCl concentrado en 50 ml de agua a la temperatura ambiente. La capa acuosa fué descartada. De la capa eterea se separó el precipitado por filtración y se lo lavó con una solución de carbonato de sodio al 10% y después con agua. Se obtuvieron así 29.5 g substancia blanca cristalina. La capa eterea fué extraída con una solución de carbonato de sodio al 10%, lavada con agua, secada con sulfato de sodio anhidro, y concentrada por evaporación obteniéndose de esta manera otra porción (2 g) de la misma substancia. To-

ta 1: 31.5 g (68 % de rendimiento). Recristalizado en alcohol, p.f. 135°; No contiene fluor y no da reacción con 2,4-dinitro fenilhidrazina. (Espectro de absorción en el infrarrojo, figura 27, página 93)

| | | | | | | |
|----------------------|-----------|-----------|---------|----------|-----------|---------|
| $C_{18}H_{14}N_2O_7$ | requiere: | C | 58.35 % | hallado: | C | 58.44 % |
| | | H | 3.79 | | H | 4.06 |
| | | N | 7.56 | | N | 7.58 |
| | | OC_2H_5 | 12.2 | | OC_2H_5 | 11.5 |
| | | p.mol. | 370 | | p.mol. | 283 |

b) 0.5 g de ácido α (m-nitrobencilideno) β -ceto- β (m-nitrofenil) propiónico (XCVII, compuesto siguiente), 1.5 ml de alcohol absoluto y 0.1 g de ácido p-tolueno sulfónico fueron sujetos a una destilación azeotrópica con 75 ml de benceno durante 6 horas. Se lavó la mezcla con 20 ml de solución de carbonato de sodio al 10% y con agua. La capa bencénica fué secada con sulfato de sodio anhidro y el solvente eliminado por evaporación. De la mezcla cristalizaron lentamente 0.045 g (8.7% de rendimiento) de compuesto XCVI de p.f. 136°.

Acido α (m-nitrobencilideno) β -ceto- β (m-nitrofenil) propiónico:
(XCVII, página 93)

a) Los extractos alcalinos de la reacción anterior (a) (compuesto XCVI) se acidificaron con ácido clorhídrico. Se obtuvo un precipitado de 0.5 g de compuesto XCVII (1.1% de rendimiento). Recristalizado en alcohol y después en benceno, p.f. 193°. No contiene fluor y da reacción positiva con 2,4-dinitro fenilhidrazina. Agujas blancas. (Espectro de absorción en el infrarrojo, figura 28, página 95).

| | | | | | | |
|----------------------|-----------|---|---------|----------|---|---------|
| $C_{16}H_{10}N_2O_7$ | requiere: | C | 56.10 % | hallado: | C | 55.99 % |
| | | H | 2.93 | | H | 3.6 |
| | | N | 8.19 | | N | 7.2 |

b) Se calentaron 2.4 g de α (m-nitrobencilideno) β -etoxi- β -hidroxi- β -(m-nitrofenil) propiolactona (XCVI, compuesto precedente) con 0.56 g de KOH en 100 ml de alcohol absoluto durante cinco minutos. Se agregó éter seco, el precipitado obtenido fué separado por filtración, disuelto en agua y acidificado con ácido clorhídrico. Se obtuvieron 2.0 g (90% de rendimiento) del compuesto XCVII de p.f. 193°.

m-Nitrobenzilideno-(m-nitrobenzoil)acetato de etilo: (CIV, página 95)

Se agregaron 2.37 g (0.01 mol) de m-nitrobenzoilacetato de etilo (CIII, página 66) a una solución de 1.51 g (0.01 mol) de aldehído m-nitrobenzoico en 20 ml de etanol. Después de añadir 0.5 ml de piperidina la mezcla fué dejada a la temperatura ambiente durante cuatro días, Entonces se agregaron unas gotas de ácido acético y de metanol y se indujo la cristalización por frotamiento de las paredes con una varilla de vidrio. La solución fué concentrada con una aplicación mínima de calor. Se obtuvieron 0.30 g (8.1 % de rendimiento) de agujas finas blancas. Después de dos recristalizaciones en una mezcla de acetona y metanol: p.f. 223° (Espectros de absorción: figuras 29 y 30, página 97).

$C_{18}H_{14}N_2O_7$ requiere: C 58.35 % hallado: C 58.67 %
H 3.79 H 3.30

1,3-di(α -piridil)-2-carboxi-3-ceto-propeno ? (CVII, página 96)

Se efectuó la reacción de 10.7 g (0.1 mol) de aldehído 2-piridínico con 10.7 g (0.1 mol) de fluoroacetato de etilo en presencia de 2.4g (0.1 mol) de hidruro de sodio en éter absoluto con la técnica experimental descrita en la preparación del compuesto LXXXV (página 112). Se mantuvo la mezcla a la temperatura de reflujo con agitación durante 16 horas y después se neutralizó cuidadosamente con 0.1 moles de HCl en 50 ml de agua. Se obtuvieron de la capa etérea 3.3g (17 % de rendimiento) de compuesto CVII. Recristalizado en alcohol: p.f. 157.5- 158.0° (sublima). Agujas largas pardo-rojizas. Se descomponen lentamente en reposo. Solubles en acetona insolubles en agua. No contiene grupo OC_2H_5 ni fluor. (Espectro de absorción en el ultravioleta, figura 31, página 97).

$C_{14}H_{10}O_3N_2$ requiere: C 66.00 % hallados: C 65.71 %
H 3.96 H 4.71
N 11.0 N 12.2

ENSAYOS BIOLÓGICOS : (ver página 69)

Medio de cultivo alcalino:

El medio de cultivo sintético, "M9", se compone de la mezcla de las soluciones siguientes:

solución A: Na_2HPO_4 anh. 120 g
 KH_2PO_4 60 g
agua 1800 ml

| | | |
|-------------|--------------------|-------|
| solución B: | NaCl | 30 g |
| | MgSO ₄ | 12 g |
| | NH ₄ Cl | 60 g |
| | agua | 540 g |

| | | |
|-----------------|------------|---------|
| solución final: | solución A | 200 ml |
| | solución B | 20 ml |
| | agua | 1780 ml |

Las experiencias con Escherichia coli fueron hechas en M9 con adición de isoleucina, triptofano y cisteína (100 γ /ml de cada aminoácido). La cepa no se desarrolla en M9 solamente.

Las experiencias con Pasteurella pestis (cepa aviculenta) fueron hechas en M9 con adición de fenilalanina o con adición de fenilalanina, tiamina y cisteína (100 γ /ml de cada aminoácido). La cepa no se desarrolla en M9 solamente.

Substancias:

dl-treo- β -6-nitro-3-fluoro fenilserina y dl-eritro- β -6-nitro-3-fluoro fenilserina en agua destilada esterilizada por filtración con filtro Seitz.

Inoculación:

0.05 ml de cultivo de agar-agar de 48 horas, aproximadamente 5×10^7 microbios. Generalmente se ha usado 3 ml de medio de cultivo.

Con la cepa de Pasteurella pestis se hizo la incubación a 29° y se efectuó la determinación del crecimiento después de una incubación de siete días. Con Escherichia coli se hizo la incubación a 37°

Inhibición del crecimiento de la Pasteurella pestis:

a) En medio de cultivo de M9 con fenilalanina: El isómero treo no retarda el crecimiento en concentraciones diferentes hasta una concentración de 20 γ /ml. Retarda el crecimiento durante 48 horas con concentraciones entre 30 a 50 γ /ml e inhibe durante 7 días con concentración de 50 γ /ml. El isómero eritro no retarda el crecimiento hasta una concentración de 30 γ /ml. Con una concentración de 50 γ /ml hay inhibición durante 48 horas en uno de cada tres tubos de ensayo. Hasta la concentración de 50 γ /ml. no hay inhibición durante siete días.

b) En medio de cultivo de M9 con alanina, tiamina y cisteína:
Los dos isómeros (treo y eritro) retardan el crecimiento durante
48 horas en concentración de 50 μ /ml. No hay inhibición después
de 7 ~~días~~ de incubación.

Inhibición del crecimiento de la Escherichia coli:

En medio de cultivo de M9 con cisteína, triptofano e isoleucina:
ninguno de los dos isómeros (treo y eritro) inhiben el crecimiento
de la E. coli con concentraciones variables desde 1 μ /ml
hasta 500 μ /ml.

9 9 - - - - -

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Elrich, Bartz, Smith, Jeslyn & Burkholder, Science 106, 417(1947)
2. Smith, Jeslyn, Grunrit, Mc Lean, Penner & Elrich, J. Bact. 55, 425 (1948)
3. Bartz, J. Biol. Chem. 172, 445 (1948)
4. Carter, Gottlieb & Anderson, Science 107, 113 (1948)
5. Gottlieb, Bhattacharyya, Anderson & Carter, J. Bact. 55, 409 (1948)
6. Rebstock, Crooks, Controulis & Bartz, J. Amer. Chem. Soc. 71, 2458 (1949)
7. Controulis, Rebstock & Crooks, *ibid* 71, 2463 (1949)
8. Long & Troutman, *ibid*, 71, 2469 (1949)
9. a) Carter, J.Sci.Food Agr. 2, 54 (1951) (C.A. 45, 7530 (1951))
b) Carter, J.Soc.Chem.Indus. 62,238 (1943) (C.A. 38, 2629 (1944))
10. Carter & McChesney, Nature 164, 575 (1949)
11. Bush, Touster & Brockman, J. Biol. Chem. 183, 685 (1951)
12. Hirata, Okuhara & Naito, Nature 173, 1101 (1954)
13. a) Marais, J. Vet. Sci. Animal Ind. 20, 67 (1944) (C.A. 39, 4116 (1945))
b) Chenoweth, Pharmacol. Review 1, 383 (1949)
14. Oxford, Raistrick & Simonart, Biochem. J. 33, 240 (1939)
15. Grove, Mc Millan, Mulholland & Rogers, J. Chem. Soc. 3977 (1952)
16. Thom, Church, Hogeboom & Craig, J. Biol. Chem. 162, 363 (1946)
17. Dean, Roberts & Robertson, J. Chem. Soc. 1432 (1954)
18. T.J. Nolan, Chemistry and Industry 512 (1934) (C.A. 28, 5499 (1934))
19. Nolan, Algar, Mc Cann, Mahan & Nolan, Sci. Proc. Roy. Dublin Soc. 24, 319 (1948) (C.A. 42, 608 (1949))

20. Asahina & Shibata, Chemistry of Lichen substances (Japan), 1949, Reviewed in Nature 168, 889 (1951)
21. Nolan, Keane & Hardiman, Chemistry & Industry 762 (1934) (C.A. 29, 147 (1935))
22. Kennedy, Brown, Keane & Nolan, Sci. Proc. Roy. Dublin Soc. 21, 557 (1937) (C.A. 32, 5036 (1938))
23. Nolan, Keane & Davidson, *ibid* 22, 237 (1940) (C.A. 34, 4765 (1940))
24. Nolan & Keane, *ibid* 22, 199 (1940) (C.A. 34, 3788 (1940))
25. Friedlander, Ber. 42, 765 (1909); 55, 1655 (1922)
26. Kendall, J. Biol. Chem. 30, 125 (1915)
27. Fink, Dent & Fink, Nature 160, 801 (1947)
28. Ostwald, Z. Physical. Chem. 74, 290 (1911)
29. Foster, J. Biol. Chem. 83, 345 (1929)
30. Tatsuka, et al. Japan Patent 1761 (C.A. 48, 2100 (1954))
31. Long & Jonesel, J. Amer. Chem. Soc. 72, 4299 (1950)
32. Bun-Hoi & Khai, C. Rend. 299, 1343 (1949) (C.A. 44, 4441 (1950))
33. *ibid.*, *ibid.* 299, 662 (1950) (C.A. 44, 5341 (1950))
34. Bambas, Troutman & Long, J. Amer. Chem. Soc. 72, 4445 (1950)
35. Sorn, Gut, et al. Collection Czech. Chem. Commun 15, 501 (1950) (C.A. 45, 9503 (1951))
36. Dann, Ulrich & Moller, Z. Naturforschung, 5 b, 446 (1950) (C.A. 45, 5323 (1951))
37. Bun-Hoi, et al. J. Chem. Soc. London 2766 (1950)
38. *idem.* J. Chem. Soc. 255 (1951) (C.A. 45, 9005 (1951))
39. Shemyakin, et al. Doklady Akad. Nauk. SSSR 66, 566 (1952) (C.A. 48, 640 (1954))
40. Rebstock & Pfeifer, J. Amer. Chem. Soc. 74, 3207 (1952)

41. Sen & Mukerji, J. Ind. Chem. Soc. 28, 740 (1952) (C.A. 47, 3267⁽¹⁹⁵³⁾)
42. Van der Meer, et al. Rec. Trav.Chim. Pays Bas 72, 236 (1953)
43. Hermann & Kreuchunas, J. Amer. Chem. Soc. 74, 5169 (1952)
44. Carrara & Weitnauer, Gazz. Chim. Ital. 81, 142 (1951) (C.A. 45, 9029 (1951))
45. Long & Troutman, J. Chem. Soc. 73, 542 (1951)
46. Ashley, J. Chem. Soc. 63 (1952)
47. Cutler, Stenger & Suter, J. Chem. Soc. 74, 5475 (1952)
48. Dennis, Warner & Froelich, et al; Antibiotics & Chemoterapy in press.
49. Suzuki & Nagawa, J. Pharm. Soc. Japan 72, 306 (1952) (C. A. 47, 2133 (1953))
50. Suzuki & Shimizu, ibid 73, 392 (1953) (C.A. 48, 3294 (1954))
51. Alberti, et al. Gazz. Chim. Ital. 82, 53 (1952) (C. A. 47, 6899 (1953))
52. Dann, Ulrich & Moller, Z. Naturforschung 7 b, 344 (1952) (C. A. 47, 8730 (1953))
53. Grooks, et al. US 2.533,765 (C.A. 45, 5724 (1951))
54. Sullivan (Parke Davis), U.S. 2.568,571 (C.A. 46, 3567 (1952)
55. Suter, Shalit & Cutler, J. Amer. Chem. Soc. 75, 4930 (1953)
56. Caldwell & Schweiker, J. Amer. Chem. Soc. 75, 5884 (1953)
57. Long & Jenesel (Parke Davis), U.S. 2.547.712 (C.A. 45, 9564 (1951))
58. Bambas (Parke Davis), U.S. 2.516.098 (C.A. 46, 533 (1952))
59. Long & Troutman, U.S. 2.516.130 (C.A. 46, 533 (1952))
60. Bui-Hoi, et al., C.Rand. 230, 987 (1950)
61. Wooley, J. Biol. Chem. 185, 293 (1950)
62. Dornow, et al., Chem. Ber. 83, 445 (1950) (C.A. 45, 2438(1951))

63. Dornow & Winter, Chem. Ber. 84, 307 (1951) (C.A. 45, 8998(1951))
64. Collins & Ellis, et al., J. Pharmacy 1, 693 (1952) (C.A. 47, 6896 (1953))
65. Kealin, Mason & Nord, J. Org. Chem. 16, 1833 (1951)
66. Long & Troutman, J. Amer. Chem. Soc. 73, 481 (1951)
67. Hayes & Gevar, J. Org. Chem. 16, 289 (1951)
68. Parke Davis, Brit. Pat. 688,109 (C.A. 48, 5217 (1954))
69. idem Brit. Pat. 687.336; 687.337; 687.284; (C.A. 48, 2110 & 2111 (1954))
70. ibid. U.S. Pat. 2,543,265-6-7-8-9-70-71 (C.A. 45, 7597 (1951))
71. ibid ibid (C.A. 46, 3569 (1952))
72. Colonna & Ranti, Bull. Sci. Chim. Ind. Bologna 9, 53 (1954) (C. A. 46, 3023 (1952))
73. Teitelson, et al. J. Pharm. Pharmac. 3, 149 (1951) (C.A. 45, 7978 (1951))
74. Iliceto & Scafano, Gazz. Chim. Ital. 81, 193 (1951) (C.A. 45, 9000 (1951))
75. Idem, ibid 81, 981 (1951)
76. Carrara, et al. ibid 80, 709 (1950)
77. idem., ibid 81, 69 (1951)
78. Rebstock, et al. J. Amer. Chem. Soc. 73, 3667 (1951)
79. idem., ibid 72, 4900 (1950)
80. idem., ibid 75, 1685 (1953)
81. Bachi, Contini & Liebherr, Helv. Chim. Acta 34, 274 (1951)
82. idem., ibid. 34, 1815 (1951)
83. Huebner & Scholz, J. Amer. Chem. Soc. 73, 2989 (1951)
-

84. Rebstock, J. Amer. Chem. Soc. 73, 3671 (1951)
85. Eiter & Sackel, Monatsch. 83, 123 (1952)
86. Fusco & Trave, Gazz. Chim. Ital. 80, 336 (1950) (C.A. 45, 3817 (1951))
87. Wetnauer, idem 81, 162 (1951) (C.A. 45, 9007 (1951))
88. Ruoff & Miller, J. Amer. Chem. Soc. 72, 1417 (1950)
89. Molho & Molho-Savoia, C. Rend. 234, 249 (1952) (C.A. 46, 6191 (1952))
90. Cestari & Boszi, Farm. Sci. e Tech. (Pavia) 5, 649 (1950) (C. A. 45, 4409 (1951))
91. idem., ibid 6, 561(1951) (C.A. 46, 2752⁽¹⁹⁵⁾)
92. Gut & Romanuk, Chem. Listy 45, 504 (1951) (C.A. 46, 7840 (1952))
93. Panizzi & Peps, Ann. chim.(Roma) 43, 29 (1953) (C. A. 48, 1896 (1954)
94. Parke Davis & Co. Belg. Patent 503.657
95. Moore (Parke Davis & Co) U.S. 2.587.641 (C.A. 46, 9601 (1952))
96. Taylor, J. Pharm. & Pharmac. 5, 254
97. Mosher, J. Amer. Chem. Soc. 75, 4899 (1953)
98. Close, J. Org. Chem. 15, 1131 (1950)
99. Crem & Elhafer, J. Amer. Chem. Soc. 74, 5828 (1952)
100. Alberti, Camerino & Vercelone, Experientia 8, 261 (1952)
101. Resnick, Ph. D. Thesis, Hebrew University Jerusalem (1954)
102. Wheland, Advanced Org. Chemistry, 2ed, 1951 (Wiley) p. 176
103. Walsh, J. Assoc. Agr. Chemistry 31, 528 (1948)
104. Davies, J. Chem. Soc. 1580 (1932)
105. Dunitz, J. Amer. Chem. Soc. 74, 995 (1952)

106. Gunther, Blinn, Carman & Metcalf, Arch. of Biochemistry and Biophysics, 50, 504 (1954)
107. Smith and Wewel Federation Proc. 9, 230 (1950); Smith, Bact. Reviews 17, 19 (1950)
108. Truhat, Sambin & Boyer, Bull. Soc. Chim. 33, 837 (1951)
109. Fildes, Brit. J. Exp. Path. 21, 315 (1940); 22, 293 (1941); 26, 416 (1945)
110. Bergmann, Sicher & Volcani, Bull. Research Council Israel 2, 214 (1952)
111. Bergmann & Sicher, Nature 170, 931 (1952)
112. Bergmann, Proceedings Koning. Neder. Akad. (Amsterdam) 57, 108 (1954)
113. Bergmann, Volcani & Ben-Ishai, J. Biol. Chem. 194, 521 (1952)
114. Bergmann, Ben-Ishai & Volcani, J. Biol. Chem. 194, 531 (1952)
115. Ben-Ishai, Bergmann & Volcani, Nature 168, 1124 (1951)
116. Brown & Byerrum, J. Amer. Chem. Soc. 74, 1523 (1952)
117. Bergmann, Sicher & Volcani, Bull. Res. Council Israel 2, 308 (1952)
118. Pansy, Khan, Pagano & Donovich, Proc. Sec. Exp. Biol. Med. 75, 618 (1950)
119. Herrel, Heilman & Wellman, Ann. N. Y. Acad. Sci. 53, 448 (1950)
120. Pulvertaft, J. Pathol. Bacteriol. 64, I 75 (1952)
121. Hochstein et al. J. Amer. Chem. Soc. 74, 3708 (1952)
122. Mavis & Smith, J. Chem. Soc. 1680 (1954)
123. Franklin & Mavis, Smith, J. Chem. Soc. 1683 (1954)
124. Evans, Clowis, Smith & Tivey, J. Chem. Soc. 1687 (1954)
125. Smith & Wewel, Archives of Biochemistry 24, 216 (1949); 28, 1 1950; 23, 232 (1950)
126. Glasho, Wesley & Wolf, J. Pharmacol. Exptl. Therap. 104, 452 (1952) (C.A. 46, 6742 (1952))

127. Volcani, Sicher, Bergmann & Bendas, J. Biol. Chem. 207, 411 (1954)
128. Rydon, Brit. J. Expt. Pathol. 29, 48 (1948)
129. Fodor, Kiss & Sallay, Nature 167, 690 (1951)
130. S. Tatsuoka, J. Pharm. Soc. Japan 71, 774 (1951) (C. A. 46, 8049 (1952))
131. Long & Troutman, J. Amer. Chem. Soc. 71, 2473 (1949)
132. a) Funke & Kornman, Comptes Rend. 233, 1631 (1951)
b) idem ibid 235, 726 (1952)
133. idem Bull. Soc.Chim. France 172 (1954); idem 173 (1954)
134. W. N. Hartung, et al., J. Amer. Chem. Soc. 75, 238 (1953)
135. V. Bydokinoff, Gazz. Chim. Ital. 82, 315 (1952)
136. Carrara, D'Amato & Bellenghi, ibid. 80, 822 (1950)
137. Erlenmayer, Annalen 307, 84 (1899); idem. ibid. 237, 222 (1904)
138. Erlenmayer & Fruestuck, ibid. 284, 36 (1895)
139. Carrara & Weitnauer, Gazz. Chim. Ital. 79, 886 (1949) (C. A. 44, 7268 (1950))
140. Alberti, et al., Chimica et Industria 31, 357 (1949)
141. Elphinoff-Felkin, Felkin & Welvart, Compt. Rend. 233, 1631 (1951)
142. Moersch, Rebestock, Moore & Hylander, J. Amer. Chem. Soc. 74, 585 (1952)
143. Bergmann & Bendas, et al. Bull. Res. Council Israel 4, 18 (1954)
144. Paul, & Joseph, Bull. Soc. Chim. France 550 (1952)
145. Vogler, Helv. Chim. Acta 33, 2111 (1950)
146. Bendas & Bergmann, Bull. Res. Council Israel 1, 131 (1951) (C.A. 46, 7069 (1952))

147. Billet, Compt. Rend. 230, 1974 (1950) (C.A. 44, 8888 (1950));
231, 293 (1950)
148. Holland, Jenkins & Mayler, J. Chem. Soc. 273 (1953)
149. Bergmann, Bendas & Taub, J. Chem. Soc. 2673 (1951)
150. Rosenmund & Dornsaft, Ber. 52, 1734 (1919)
151. Forster & Rao, J. Chem. Soc. 1943 (1926)
152. Oesterlin, Chem. Zentralbl. II, 1398 (1929)
153. Fournau & Billeter, Bull. Soc. Chim. 7, 593 (1940)
154. Bergmann, Bendas & Resnick, J. Chem. Soc. 2564 (1953)
155. Viscontini & Fuchs, Helv. Chim. Acta 36, 660 (1953)
156. Bergmann, Bendas & Krakauer, J. Chem. Soc. 1064 (1954)
157. Bergmann & Bendas, Bull. Res. Council Israel 2, 198 (1952)
158. Gerngross & Zuhlke, Ber. 57, 1482 (1924)
159. Holland & Mayler, Chem. & Ind. 518 (1952)
160. Elphimoff-Felkin, Felkin & Welvart, Compt. Rend. 234, 1564,
1627 (1952)
161. Belhofer, J. Amer. Chem. Soc. 74, 5459 (1952)
162. Elphimoff-Felkin & Felkin, Tchoubar & Welvart, Bull. Soc. Chim.
France 252 (1952)
163. Elphimoff-Felkin & Felkin, Compt. Rend. 232, 241 (1951)
164. Dalglish & Mann, J. Chem. Soc. 658 (1947)
165. Dalglish, J. Chem. Soc. 90 (1949)
166. Shaw & Fox, J. Amer. Chem. Soc. 75, 3417, 3421 (1953)
167. Chang & Hartung, J. Amer. Chem. Soc. 75, 89, 238 (1953)
168. Fenes, J. Org. Chem. 17, 1534 (1952)
169. Ges. fur Kohlentechnik m.b.H; German Patent 632,424 (July 8,
1935)
170. Belhofer, J. Amer. Chem. Soc. 76, 1322 (1954)

171. Bolhofer, J. Amer. Chem. Soc. 75, 4469 (1953)
172. Dullaghan & Nord, J. Amer. Chem. Soc. 73, 5455 (1951)
173. Ehrhart, Chem. Ber. 86, 486 (1953)
174. Kopff, Larramona & Welvard, Compt. Rend. 233, 527 (1951)
175. Carrara, Pace & Cristiani, J. Amer. Chem. Soc. 74, 4949 (1952)
176. Riphinoff-Felkin, Felkin & Welvart, Compt. Rend. 235, 1510 (1952)
177. Kanao & Shinosuka, J. Pharm. Soc. Japan 67, 218 (1947) (citado por Bolhofer (170))
178. Carrara, Cristiani, D'Amato, Pace & Pagani, Gazz. Chim. Ital. 82, 325 (1952)
179. Bergmann & Pinchas, J. Org. Chem. 15, 1184 (1950)
180. Baddar & Iskander, J. Chem. Soc. 203 (1954)
181. D.M. Shirley, Prep. of Organic Intermediates (Wiley, N.Y.) 1951 p. 167
182. Schiemann, Chem. Ber. 62B, 1794 (1929)
183. Davey & Gwilt, J. Chem. Soc. 3348 (1950)
184. S. Pinchas, Bull. Research Council Israel, 2, 304 (1952)
185. S. Pinchas, Analytical Chemistry (1954) in press
186. Angyal, J. Chem. Soc. 2141 (1950)
187. J. Baker, J. Chem. Soc. 1448 (1936)
188. Shoesmith, Sesson & Slater, J. Chem. Soc. 2761 (1926)
189. Crookes, Rebstock, Controulis & Bartz, U.S.A. Patent 2,483,885 & 2,543,957
190. Ziegler, Spath, Schaaf, Schumann & Winkelmann, Annalen der Chemie 561, 118 (1942)
191. E. G. Corey, J. Amer. Chem. Soc. 75, 2251 (1953)
192. Langenbeck & Boser, Chem. Berichte 84, 526 (1951)

193. Sheehan & Belhofer, J. Amer. Chem. Soc. 72, 2786 (1950)
194. Schumann & Boissonnas, Nature 169, 154 (1952)
195. Todd and Teich, J. Amer. Chem. Soc. 75, 1896 (1953)
196. Snyder, Shekleton & Lewis, J. Amer. Chem. Soc. 67, 311 (1945)
197. E. Fisher & B. Mouneyart, Chem. Ber. 33, 2390
198. Smith, et al. J. Biol. Chem. 199, 802 (1952)
199. Sheffield, J. Chem. Soc. 2903 (1927)
200. Schmidt & Karrer, Helv. Chim. Acta 29, 578 (1946)
201. Fieser, Chem. Ber. 24, 207 (1891); Riecke, *ibid.* 22, 2361 (1889)
202. Bergmann, Hirschberg, Pinchas & Zinsheim, Rec. Trav. Chim. Pays Bas 71, 192 (1952)
203. Finger & Reed *et al.*, J. Amer. Chem. Soc. 73, 145 (1951)
204. Walkerfield, Ind. Eng. Chem. 43, 2363 (1951)
205. D. Johnson, J. Amer. Chem. Soc. 75, 2720 (1953)
206. A. Smakula, Angew. Chemie 47, 657(1934); *idem* 48, 152 (1935)
207. Perkin, J. Chem. Soc. 31, 389 (1877)
208. Fitting, Chem. Ber. 14, 1824 (1881); Ann. 227, 48 (1888)
209. Kalnin, Helv. Chim. Acta 11, 977 (1928)
210. Breslow & Hauser, J. Amer. Chem. Soc. 61, 786 (1939)
211. Org. Reactions, vol. I p. 216 (Wiley, N.Y., 1947)
212. Org. Chemistry, Gilman, vol. III p. 112 (Wiley N.Y. 1953)
213. Mansley & Carlisle, Chem. Eng. News, 23, 1332 (1945)
214. Mc Bee, Pierce, Kilbourne & Wilson, J. Amer. Chem. Soc. 75, 3152 (1953)
215. Dauben & Hance, J. Amer. Chem. Soc. 75, 3554 (1953)
216. Grove & Willis, J. Chem. Soc. 877 (1951)

217. A. Galat, *J. Amer. Chem. Soc.* 68, 376 (1946)
218. Hirschberg, E. D. Bergmann & F. Bergmann, *J. Amer. Chem. Soc.* 72, 5120 (1950)
219. A.R. Finder, *J. Chem. Soc.* 2236 (1952)
220. Bergmann & Pinchas, *J. Org. Chem.* 15, 1023 (1950)
221. Fieser & Neuman, *J. Amer. Chem. Soc.* 58, 2376 (1936)
222. Bergmann & Pinchas, *Rec.* 71, 162 (1952)
223. Claisen & Thompson, *Chem. Ber.* 12, 1879 (1943)
224. Dulow & Hafler, *Chem. Ber.* 36, 933
225. Rukemann, *J. Chem. Soc.* 83, 722 (1903)
226. Swartz, *Bull. Soc. Chim. France* (4) 25, 329
227. Eichengrun & Einhorn, *Ann. der Chemie* 282, 135 (Beilstein, VII, 235)
228. Einhorn & Gernsheim, *ibid* 284, 141 (Beilstein, VII, 239)
229. Brady & Jarrett, *J. Org. Chem.* 1227 (1950)
230. Mulliken, *Chem. Physics* 2, 782 (1934)
231. Simons, J.H., *Fluorine Chemistry* (Acad. Press, N.Y. 1950) p.402
232. Smith & Turton, *J. Chem. Soc.* 1701 (1951)
233. Balz & Schiemann, *Chem. Ber.* 60, 1186 (1927)
234. Bennet & Niemann, *J. Amer. Chem. Soc.* 72, 1800; 1804 (1950)
235. *idem.*, *ibid* 72, 1806 (1950)
236. Kraft, *Chem. Ber.* 84, 150 (1951)
237. Rinderknecht & Niemann, *J. Amer. Chem. Soc.* 72, 2296 (1950)
238. Wyss, et al. *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 52, 155 (1947)
239. Bergmann, Sicher & Volcani, *Bioch. J.* 54, 1 (1953)
240. Bergmann, E.D., *J. Amer. Chem. Soc.* 74, 4947 (1952)
241. Bergmann, Sicher & Volcani, unpublished results.

242. Atkinson, et al. Arch. Biochem. 31, 205 (1951)
243. Armstrong & Lewis, J. Biol. Chem. 188, 91 (1951)
244. Bayer, Evans & Phillips, J. Pharmacol. 73, 176 (1941)
245. Mitchel, Niemann, J. Amer. Chem. Soc. 69, 1232 (1947)
246. Rheinbalt & Levy, Chem. Abstr. 46, 7552 (1952)
247. Halvorsen & Spiegelman, J. Bact. 64, 207 (1952)
248. Bradlow & Vander Werf, J. Amer. Chem. Soc. 70, 654 (1948)
249. Sveinbjornsson, Bradlow, Ose & Vander Werf, J. Org. Chem. 16, 1450 (1951)
250. Hansen, J. Amer. Chem. Soc. 59, 280 (1937)
251. Dunker, Chem. Abstr. 44, 10172 (1950)
252. Fosdick & Campaigne, J. Amer. Chem. Soc. 63, 974 (1941)
253. Wilkinson & Finar, J. Chem. Soc. 32 (1948), *ibid.* 769 (1947)
254. Riemschneider R., Z. Naturforsch. 2 b, 245 (1947) (C.A. 42, 3524 (1948))
255. Sveinbjornsson & Vander Werf, J. Amer. Chem. Soc. 73, 869 (1951)
256. S. Tatsuea, J. Pharm. Soc. Japan 71, 604 (1951) (C.A. 46, 464 (1952))
257. Warburg & Christian, Naturwiss. 29, 539 (1941); Biochem. Z. 310, 384 (1942)
258. I. G. Farben, German Patent 504.886
259. David, Nature 165, 493 (1950)
260. Fuerehgott, J. Pharmacol. 92, 1 (1950); Clarke & Riker, *ibid.* 99, 118 (1950)
261. Gryskiewicz-Trochimovsky, et al., Rec. Trav. Chim. 66, 413, 419 (1947)
262. *Idem.* Bull. Soc. Chim. France 20, 462 (1953)
263. Schrader G., Die Entwicklung neuer Insecticide auf Grundlage Organischer Fluor und Phosphor-Verb. (Verl. Chemie GmbH Weinheim/Bergstr., 1951)

264. Kalmbach E.R., Science 102, 232 (1945)
265. Pattison F.L.M., Nature 172, 1139 (1953)
266. McCombie & Saunders, Nature 158, 382 (1946)
267. Saunders et al. J. Chem.Soc. 1773 (1948); *ibid.* 773, 912, 916, 1079, 1471, 2745, 2774 (1949)
268. Barron et al., J.Biol. Chem. 170, 67, 83 (1947)
269. Idebecq & Peters, Biochim. Biophys. Acta 3, 215 (1949);
Peters et al. J.Physiol. 110, 448 (1950); Biochem. J. 48,
467 (1951); Proc. Roy. Soc. B 137, 297 (1950)
270. Martins C., Liebigs Ann. 561, 227 (1949)
271. Peters R.A., Proc. Roy. Soc., B,139, 143 (1952)
272. Rivett D.E.A., J. Chem. Soc. 3710 (1953)
273. Landolt-Bornstein, Phys. Chem. Tabellen, vol. I part 3,p.134
274. Colthup N.B., J. Optical Soc. Am. 40, 397 (1950) (C.A. 44,
7148 (1950))
275. Michael & Pendleton, J. Prakt. Chem. (2) 40, 65 (Beilst. 9,
p. 238 erstes erg)
276. Rasmussen & Brettain, J. Amer.Chem.Soc. 71, 1073 (1949)
277. Filler, *ibid.* 76, 1376 (1954)
278. Harris & Lenart, Annalen 410, 108 (1915)
279. Mathes et al., Chem. Ber. 84, 452 (1951) (C.A. 46, 3536(1952))
280. Dakin, J. Biol. Chem. 3, 49 (1909)
281. Blank I, Ph.D. Thesis, Hebrew University Jerusalem, 1954
282. Peters, Wakelin, Rivett & Thomas, Nature 171, 1111 (1953)
283. Szinai S., Bull. Research Council Israel 4, 103 (1954)
284. Sengi & Fagioli, Gazz. Chim. Ital. 83, 73 (1953) (C.A. 48,
8754 (1954))
285. Parke Davis & Co., Brit. Patent 673.864/1952 (C.A. 48, 8823
(1954)

286. Purvis J.E., J. Chem. Soc. 107, 971 (1915)
287. Mentzer, Meunier, Molho-Lacroix & Billet, Bull. Soc. Biol. 32, 55 (1950)
288. Fedor, Kiss & Sallay, J.Chem. Soc. 1858 (1951)
289. Wilkinson, U.S.P. 2,519,505 (1952) (C.A. 47, 9361 (1953))
290. Peters & Wilson, Biochim. and Biophys. Acta 9, 310 (1952)
291. Peters, Wakelin & Buffa, Proc. Roy. Soc. B.140, 497 (1953)
292. Roche, Lissitzky & Michel, Ann. Pharm. Franc. 10, 166 (1952) (C.A. 46, 9643 (1952)).
-

RESUMEN

El objeto del presente trabajo es el estudio de los métodos de condensación de los aminoácidos (o de sus ésteres) con los aldehidos aromáticos, la síntesis de nuevas β -fenilserinas sustituidas (intermediarios importantes en la síntesis de la cloromicetina) y el estudio de los métodos de condensación de tipo Perkin entre los aldehidos aromáticos, el monofluoroacetato de sodio y el anhídrido monofluoroacético (o entre el monofluoroacetato de etilo y el hidruro de sodio).

Las conclusiones más importantes del presente trabajo son las siguientes:

1) El aldehido 6-nitro-3-fluoro benzoico se condensa fácilmente con el glicinato de etilo. La configuración estérica del producto de la condensación (β -6-nitro-3-fluoro fenilserinato de etilo) varía de acuerdo con el método de condensación usado.

2) El estereo-isómero que suponemos que pertenece a la serie tres (la di-tres- β -6-nitro-3-fluoro fenilserina, obtenida por condensación directa sin solvente) presenta una actividad bacteriostática débil contra una cepa avirulenta de Pasteurella pestis. El otro isómero, serie gritres, (obtenido por condensación asotrópica en benceno hirviendo y por condensación en metanol) presenta una actividad algo menor.

3) El norvalinato de metilo se condensa bajo la influencia de los rayos solares con el aldehido p-nitro benzoico en metanol.

Se obtiene el eritro- β -(p-nitrobenzilideno)- α -amino- α (p-nitro- α' -hidroxibencil)-valerato de metilo.

4) El aldehido p-cloro benzoico se condensa con el glicinato de potasio en alcohol absoluto, se obtiene la treo- β -p-clorobenzilideno- β -p-clorofenilserina.

5) El aldehido o-benzil-o-cloro salicílico se condensa con el glicinato de potasio en alcohol absoluto, se obtiene la treo- β -o-cloro-o-benziloxi-fenil)serina.

6) El aldehido p-ciano benzoico se condensa con el glicinato de etilo a la temperatura ambiente sin solvente, se obtiene el treo- β -p-ciano fenilserinato de etilo.

7) Los ensayos para efectuar la condensación del aldehido p-nitro benzoico con el (γ -fenil-acetamido)-crotonato de etilo y la 2 (5H)-pirrolona han dado resultados negativos.

8) No todas las fenilserinas substituídas que poseen configuración eritro presentan en sus espectros de absorción en el infrarrojo una banda en $11.90-11.95 \mu$ (Bolhofer, J. Amer. Chem. Soc. 76, 1322 (1954)). Por lo tanto la presencia o ausencia de dicha banda de absorción en un determinado compuesto no nos permite determinar la configuración estérica de dicho compuesto.

9) El ácido monofluoroacético es capaz de dar reacciones de condensación de tipo Perkin con los aldehidos aromáticos (aldehido benzoico, aldehido p-nitro benzoico, aldehido o-cloro benzoico y

aldehído cinámico) pero la presencia del fluor en el producto de la condensación ocasiona que en muchos casos éste se descomponga durante la reacción, perdiendo ácido fluorhídrico (aldehído p-cloro benzoico) y reaccione después con otra molécula de aldehído (aldehído m-nitro-benzoico y aldehído 2-piridínico) dando lugar a productos de condensación más complejos.

10) Han sido preparadas las siguientes sustancias no citadas en la literatura química hasta fines del año 1954:

Aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico,

Semicarbazona del aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico,

2,4-Dinitrofenil hidrazona del aldehído 6-nitro-3-fluoro benzoico,

Acido 4-nitro-3-fluoro benzoico,

Semicarbazona del aldehído 4-nitro-3-fluoro benzoico,

Sal cuaternaria de hexamina del bromuro de 3-fluoro bencilo,

Bisulfito de sodio del aldehído 3-fluoro benzoico,

Semicarbazona del aldehído 3-fluoro benzoico,

Eritro- β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinato de etilo,

Clorhidrato de eritro- β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinate de etilo,

Treo - β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serinato de etilo,

Clorhidrato de treo- β - (6-nitro-3-fluoro-fenil)serinate de etilo,

Eritro- β -(6-nitro-3-fluoro-fenil)-serina

Treo- β - (6-nitro-3-fluoro-fenil)-serina,

α - (p-Nitrobenzilidencamino)-fenilacetato de etilo,

N-(2-hidroxi-6-clorobencilideno)-glicinate de etilo,

Eritro-N-(p-cianobencilideno)- β -cianofenilserinate de etilo,

Clorhidrato de eritro- β -p-cianofenilserinato de etilo,

Treo- β -p-cianofenilserinate de etilo,

Clorhidrato de treo- β -p-cianofenilserinate de etilo,

P O P H A

β -o-Nitrofenilserinato de etilo (?),

Eritro-N-(p-nitrobencilideno)- α -amino- α -(p-nitro- α' -hidro-ibencil)-valerato de metilo,

Treo-N-(p-clorobencilideno)- β -p-clorofenilserina,

Treo- β -(o-cloro-2-benciloxifenil)-serina,

2,4-dinitrofenilhidrazona del aldehido α -fluoro cinámico,

α -fluoro cinamato de etilo,

1-Fluoro-1-carboxi-4-fenil butadieno,

1-Fluoro-1-carboxi-4-fenil butadieno,

Acido p-nitro- α -fluoro cinámico,

Acido 1-fluoro-2-hidroxi-2-(o-clorofenil)propiónico,

Acido 4, β -dicloro cinámico,

Acido 1,3 (m-nitrofenil)-1,3(dihidroxi)-2-fluoro isobutanoico,

1,4-Di m-nitrofenil butadieno (?),

α -(m-Nitrobencilideno) β -etoxi- β -hidroxi- β -(m-nitrofe-nil propiolactona,

Acido α -(m-nitrobencilideno) β -ceto- β -(m-nitrofenil) pro-piónico,

m-Nitrobencilideno-(m-nitrobenzoi)l) acetato de etilo,

1,3-di (α -piridil)-2-carboxi-3-ceto-propeno (?).

M. L. Mendive

José Schwartz