

S1  
2ej.

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO**

**FACULTAD DE QUIMICA**



**SINTESIS DE  
ALFA-AMINOACIDOS MODIFICADOS**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

**Q U I M I C O**

**P R E S E N T A**

**María de Lourdes Beatriz Villar Cuevas**

MÉXICO, D.F.

1992

**FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

1. INTRODUCCION .....	1
2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACION. ....	2
2.1 Importancia de los $\alpha$ -alquilaminoácidos .....	2
2.2 Reacciones de degradación enzimática .....	5
2.2.1. Reacciones de transaminación .....	5
2.2.2. Reacciones de racemización .....	9
2.2.3. Reacciones de descarboxilación dependientes de la transaminación .....	11
2.2.4. Importancia fisiológica de las enzimas descarboxiladas..	15
2.3 Utilización de los $\alpha$ -alquilaminoácidos como fármacos....	15
2.4 Justificación .....	19
2.5 Métodos de obtención de los $\alpha$ -alquilaminoácidos .....	22
2.5.1. Síntesis de Strecker .....	23
2.5.2. Síntesis de Bócherer .....	24
2.5.3. Hidrólisis de la hidantoína .....	27
3. OBJETIVOS .....	29
4. PARTE EXPERIMENTAL .....	30
5. RESULTADOS Y DISCUSION .....	34
6. CONCLUSIONES .....	42
7. BIBLIOGRAFIA .....	43

## 1. INTRODUCCION

La preparación de los  $\alpha$ -alquil aminoácidos es de gran interés, ya que dichos aminoácidos se pueden emplear como antagonistas de los aminoácidos naturales, como inhibidores enzimáticos para el estudio de los mecanismos de reacción, como compuestos de utilidad farmacológica y en la preparación de péptidos análogos con actividad biológica.

Existe un gran número de péptidos con actividad biológica para los cuales no se ha podido establecer un principio básico en cuanto a sus mecanismos funcionales. La metodología más utilizada para conocer estos mecanismos es el empleo de inhibidores específicos de las enzimas que participan en estos procesos. Los inhibidores que se emplean son péptidos análogos a los que se les ha modificado, intercambiado o excluido un aminoácido.

En este trabajo se presenta la síntesis de  $\alpha$ -etilalanina (29) y  $\alpha$ -metilmetionina (40) que, en un trabajo posterior, serán utilizados en la preparación de tripéptidos. Los inhibidores que se sintetizarán son Lys-Arg- $\alpha$ -etil-Ala y Lys-Arg- $\alpha$ -metil-Met. Estos tripéptidos se utilizarán como inhibidores de las proteasas que participan en el procesamiento de proencefalinas.

La síntesis de los  $\alpha$ -alquilaminoácidos se llevó a cabo por rompimiento hidrolítico de una hidantoína, la que a su vez se obtuvo a partir de una metilcetona.

## 2. ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN

### 2.1. IMPORTANCIA DE LOS $\alpha$ -ALQUILAMINOÁCIDOS

Los aminoácidos ramificados en la posición  $\alpha$  al carboxilo, (estructura 2) se han utilizado como antagonistas de los aminoácidos naturales, (estructura 1) como inhibidores en el estudio de los mecanismos de reacción enzimática, como compuestos con un gran potencial farmacéutico y en la síntesis de análogos peptídicos con actividad biológica.

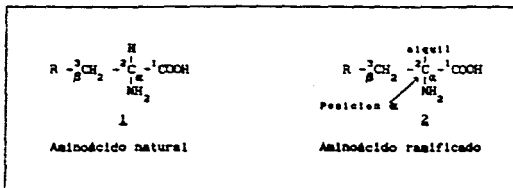


Figura 1

La sustitución del hidrógeno de la posición  $\alpha$  al carboxilo por un grupo alquilo, impide cambios conformacionales y tautoméricos que son necesarios para la catálisis enzimática. La modificación del aminoácido impide el reconocimiento adecuado del sitio activo de la enzima.

Se han encontrado algunos  $\alpha$ -alquilaminoácidos como constituyentes de antibióticos, por ejemplo: Antimoebina I, Emericina III y Emericina IV. Dichos antibióticos son péptidos que contienen residuos del aminoácido  $\alpha$ -aminoisobutírico (Aib). L-isovelina (L-Iva) y como residuo terminal L-fenalaninol (Phol). Estos péptidos reciben el nombre genérico de peptaiboles, por contener residuos del ácido  $\alpha$ -aminoisobutírico y de

fenilalaninol. [1].

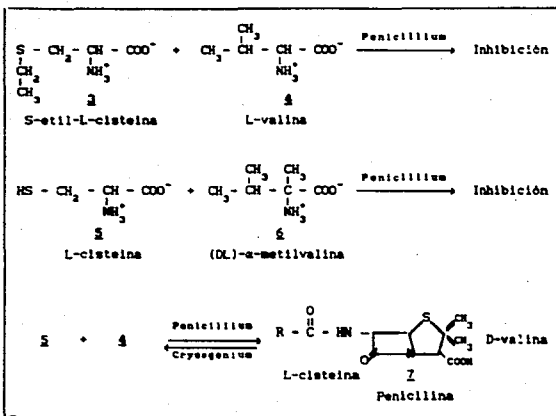
La Leucinostatina ha mostrado propiedades antitumorales en el carcinoma de Erlich, actividad contra las bacterias gram-positivas y una gran variedad de hongos. Este péptido está formado por los aminoácidos *cis*-4-metil-L-prolina (ae-Pro), L-treonina,  $\alpha$ -hidroxileucina (Hy-leu) y el ácido  $\alpha$ -aminoisobutírico (Aib) [1].

Algunas de las aplicaciones de los aminoácidos modificados en la posición  $\alpha$  se presentan a continuación.

La DL- $\alpha$ -metilvalina se utilizó como inhibidor para conocer la síntesis de la penicilina. [3]. Por medio de este estudio se pudo demostrar que la L-cisteína (3) y el esqueleto carbonado de L-valina (4), participan como precursores del anillo fusionado de la tiazolidina- $\beta$ -lactama.

La molécula de penicilina es sintetizada por *Penicillium cryogaeum*. Cuando se utilizó una suspensión del material micelial con S-etil-L-cisteína (3) y L-valina (4), se observó una gran inhibición en la síntesis de penicilina (7); también se observó el mismo resultado con L-cisteína (5) y DL- $\alpha$ -metilvalina. Cuando se agregó L-cisteína y L-valina la inhibición se hizo reversible. Con esto se pudo demostrar que estos aminoácidos son precursores de la penicilina. (Esquema I).

En estudios realizados con  $\alpha$ -metilaminoácidos se ha visto que presentan actividad biológica tanto *in vitro* como *in vivo*. El  $\alpha$ -etil-DL-triptofano es un antagonista de triptofano y presenta gran actividad contra infecciones causadas por estafilococos. [4]. La  $\alpha$ -metilmethionina es antagonista de la metionina e impide la acción de la D-aminoácido oxidasa sobre la fenil alanina, también se ha reportado que es activa contra la enfermedad del virus Newcastle [5]. La  $\alpha$ -metilalanina, la  $\alpha$ -etil-DL-serina y la  $\alpha$ -hidroximetil-DL-serina, cuando se inyectan intraperitonealmente, se acumulan en el hígado de la rata de experimentación pero no se degradan. Parece ser que el hidrógeno de la posición  $\alpha$  es necesario para la degradación [6].



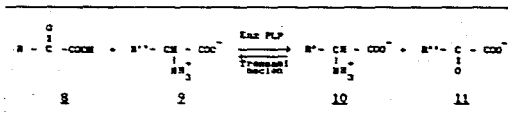
Esquema I

## 2.2. REACCIONES DE DEGRADACION ENZIMATICA

La necesidad del hidrógeno en la posición  $\alpha$  se puede observar en las reacciones de degradación enzimática de los aminoácidos, como las reacciones de transaminación, de racemización y las de descarboxilación dependientes de la transaminación.

### 2.2.1. REACCIONES DE TRANSAMINACION.

En las reacciones de transaminación el grupo  $\alpha$ -amino de uno de los aminoácidos (9) se intercambia con el oxígeno del grupo  $\alpha$ -carbonilo de un cetoácido. (Esquema II).



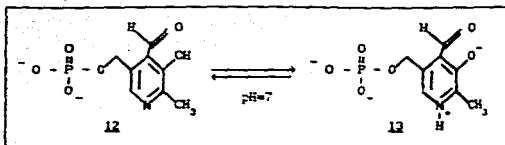
Esquema II

El mecanismo que se propone para las reacciones de transaminación, en el cual se puede observar el papel del hidrógeno de la posición  $\alpha$ , es el siguiente [7].

Las enzimas que efectúan las reacciones de transaminación, utilizan como coenzima al fosfato de piridoxal (PLP), (12).

El fosfato de piridoxal - o vitamina B<sub>6</sub> - a pH 7 es un ion dipolar (13), ya que el grupo hidroxilo del carbono 3 y el nitrógeno de la piridina se encuentran ionizados. (Esquema III).





Esquema III. Ionización del fosfato de piridoxal a pH = 7

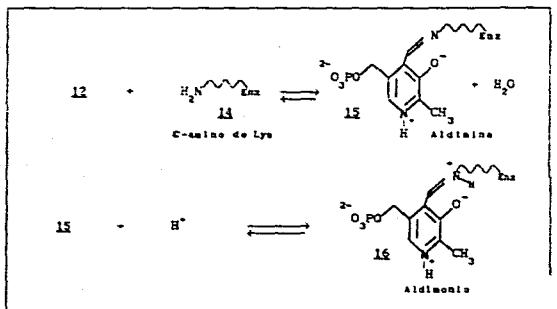
La enzima se une a la función aldehído del fosfato de piridoxal (12), por medio de un residuo  $\alpha$ -amino de lisina (14), formando una aldimina (base de Schiff) (15). A pH 7 el nitrógeno de la aldimina es básico por lo que se establece un equilibrio, entre la aldimina y el ion aldisonio (16), cuya carga positiva es estabilizada por el oxígeno del carbono 3 de la piridina. (Esquema IV).

Tanto el ion piridinio como el nitrógeno iminio, actúan como fuentes deficientes de electrones en la catálisis, de tal forma que pueden estabilizar un carbanión a través de un efecto electrotractor, con la ayuda del sistema deslocalizado  $\pi$ .

La aldimina (16) se intercambia con el grupo  $\alpha$ -amino del aminoácido sustrato (2), en una reacción de transaldimación.

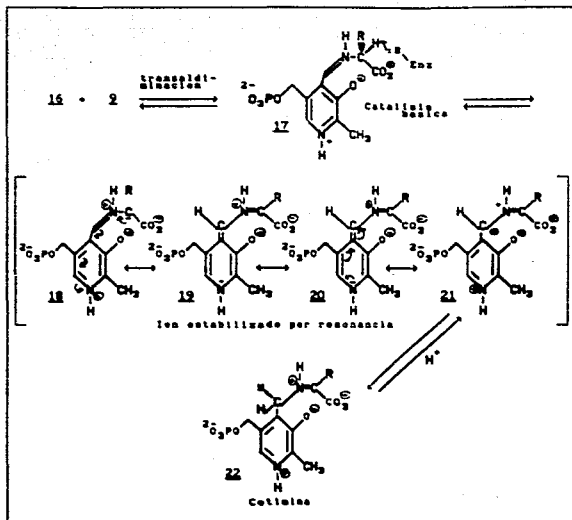
La nueva aldimina formada se tautomeriza a la cetimina (22), por medio de una catálisis básica (esquema V). Este cambio se puede realizar por la presencia del hidrógeno de la posición  $\alpha$  del aminoácido (17), y el efecto electrotractor del ion imino y del ion piridinio, estos dos iones hacen que el hidrógeno aumente su acidez y el anión formado después de la

sustracción del protón, es estabilizado por resonancia, (esquema V). En este tipo de catálisis se combinan dos efectos: el efecto inductivo desestabilizante de los reactantes, y el efecto de estabilización por resonancia del producto; ambos efectos se pueden atribuir al nitrógeno cuaternario del ion piridinio. Después de la estabilización por el efecto de resonancia, se protona el carbono bencílico del fosfato de piridoxal (21) para la obtención de una cetimina (22), (esquema V).

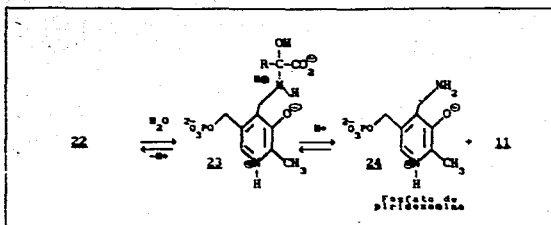


Esquema IV. Formación de la aldimina y su equilibrio con el aldimonio

La hidrólisis de la cetimina produce un cetoácido (11) y fosfato de piridoxamina (24) (PMP). (Esquema VI).



Esquema V. Estabilización del intermediario y formación de la cetina.

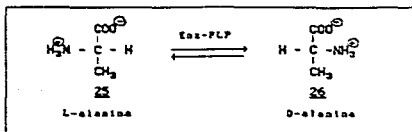


Esquema VI. Hidrólisis de la cetimina

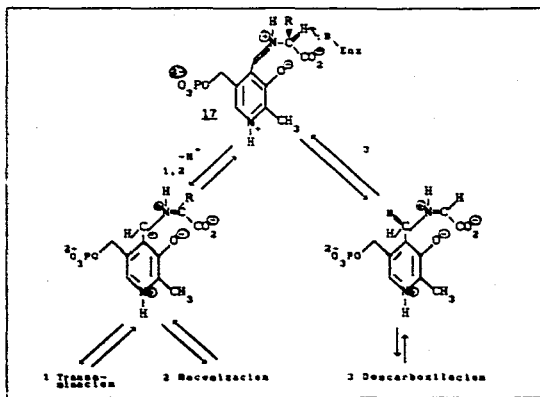
### 2.2.2. REACCIONES DE RACENIZACION

En las reacciones de racemización el aminoácido puro L se transforma en su mezcla racémica. Por ejemplo *Pseudomonas putida* sintetiza una enzima dependiente del fosfato de piridoxal, que cataliza la racemización de L o D alanina. (esquema VII). Es probable que esta enzima sea la que proporciona el suministro de D-alanina a las bacterias para la síntesis de la pared celular. (7).

En el mecanismo de la racemización, igual que en el de la transaminación, se forma un aducto aldimina entre el aminoácido y el fosfato de piridoxal, (estructura 17). La sustracción del protón de la posición  $\alpha$  hace que se forme un carbanión que es estabilizado por resonancia, (esquema VI). La reprotonación del carbanión, produce la mezcla racémica, (esquema VIII).



Esquema VII. Reacción de racemización



Esquema VIII

La falta del hidrógeno de la posición  $\alpha$  en los  $\alpha$ -alquil-aminoácidos, impide la catálisis básica de la enzima, (fig. 2) y los cambios tautoméricos para la formación de la cetina. [7], [8].

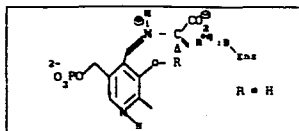
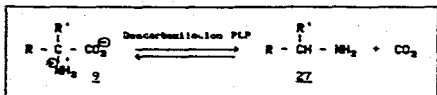


Figura 2. Impedimento de la catálisis debido a la sustitución del hidrógeno por un radical alquilo

#### 2.2.2. REACCIONES DE DESCARBOXILACION

En las reacciones de descarboxilación de aminoácidos, algunas de las enzimas que realizan estas transformaciones, utilizan como coenzima al fosfato de piridoxal, en un mecanismo que se conoce como: descarboxilación dependiente de la transaminación. Como ejemplo tenemos: la glutámico descarboxilasa [9], dopa descarboxilasa [10] y ornitina descarboxilasa [11]. La reacción de descarboxilación se presenta en el esquema IX.

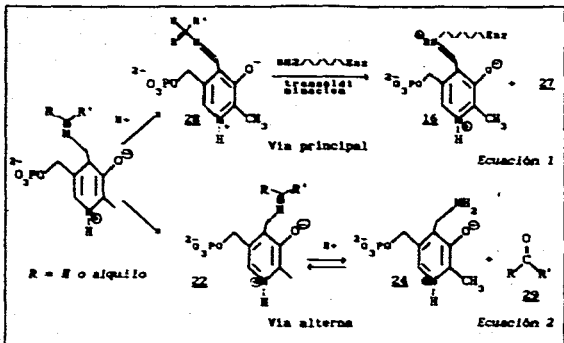
En el mecanismo de la descarboxilación el aminoácido que se va a transformar, desplaza a la enzima que se encuentra unida al fosfato de piridoxal en forma de base de Schiff, [12]. El aminoácido se descarboxila formándose un anión estabilizado por resonancia con el anillo piridinio de la coenzima, de la misma manera que en las reacciones de transaminación (esquema V). Una vez que se estabiliza el carbanión, éste se protona en el carbono  $\alpha$  y ocurre una reacción de transaldiminación con un grupo  $\epsilon$ -amino lisina de la enzima y la obtención del compuesto descarboxilado. Esquema VIII.



Esquema IX

Parece ser que las descarboxilasas que utilizan como coenzima al fosfato de piridoxal, utilizan como mecanismo regulador la vía alterna de la transaminación, ya que además del producto descarboxilado se han encontrado cantidades variables de aldehídos o cetonas (22) y fosfato de piridoxamina (24), que son productos de las reacciones de transaminación. (Esquemas IV, V y VI).

Para la reacción de descarboxilación dependiente de la transaminación se postula que después de la descarboxilación, el anión del intermediario que se forma (20) se puede protonar al término del sistema conjugado, en el carbono  $\alpha$ , lo que daría el producto descarboxilado (22) y la enzima activa, (16) esquema X. Sin embargo, una pequeña proporción de la protonación se realiza en el átomo de carbono benzílico del intermediario. Esta protonación explica la formación de los productos de la transaminación, (12). Esquema X.



Esquema X. Mecanismo de descarboxilación dependiente de la transaminación.

Los  $\alpha$ -estilaminoácidos han mostrado propiedades inhibitorias de las descarboxilasas dependientes del fosfato de piridoxal y se han utilizado en el estudio de los mecanismos de reacción de estas enzimas. La  $\alpha$ -estildopa y la  $\alpha$ -estiltirosina inhiben a la enzima dopa descarboxilasa. [10,12]. Cuando se utilizan estos inhibidores se observa una velocidad de transformación de la enzima cuarenta veces más baja que la velocidad de transformación con el aminoácido natural L-dopa.

En presencia de los aminoácidos alquilados, además de la disminución de la velocidad de reacción, se observa una mayor proporción de los



productos de la vía alterna, ecuación 2 esquema X, de una reacción de descarboxilación dependiente de la transaminación. La fracción de descarboxilación dependiente de la transaminación con los  $\alpha$ -alquilánálogos es del orden de 2X y con el aminoácido natural es aproximadamente de 0.02X. [10]. Cuando se comparó la actividad de la glutamato descarboxilasa sobre el ácido  $\alpha$ -metilglutámico, el aminoácido alquilado, y el ácido glutámico, el sustrato natural, se encontraron resultados semejantes. [13].

La ornitina descarboxilasa transforma lentamente a la  $\alpha$ -metilornitina para producir la amina correspondiente, dióxido de carbono, 5-amino-2-pentanona y fosfato de piridoxamina. En ausencia de fosfato de piridoxal la enzima se inactiva, si se agrega fosfato de piridoxal, la descarboxilación procede lentamente hasta que se consume la coenzima. [11]. Similarmente durante la descarboxilación de la ornitina, se encuentran pequeñas cantidades de 4-aminopentanal, además de los productos normales de la descarboxilación. Por lo anterior, se puede pensar, que tanto la  $\alpha$ -metilornitina como la ornitina responden también a la reacción de descarboxilación dependiente de la transaminación.

El hecho de que la proporción de productos de la descarboxilación dependiente de la transaminación sea mayor para los  $\alpha$ -metilánálogos como sustratos, puede sugerir que la enzima tiene poca habilidad para controlar, de manera específica, el sitio de protonación del intermedio quinóido, 2Q, esquema X.

La reacción de descarboxilación dependiente de la transaminación, puede ser una forma de control de los niveles de descarboxilasas en las células. Al formarse por la vía alterna, fosfato de piridoxamina (2A), éste puede liberarse más fácilmente del complejo enzimático, dejando a la coenzima libre la cual puede ser degradada rápidamente por las proteasas. [11,23].

### 2.2.3. IMPORTANCIA FISIOLÓGICA DE LAS ENZIMAS DESCARBOXILASAS

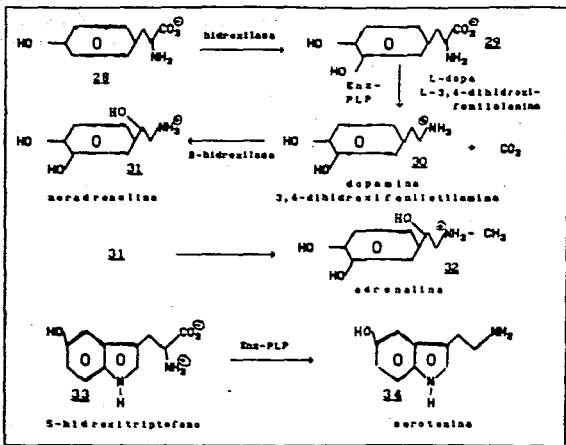
Estas enzimas tienen una gran importancia fisiológica. L-dopa descarboxilasa participa en la transformación de tirosina (23) a dopamina (24), la cual se transforma en los neurotransmisores: noradrenalina (25) y adrenalina (26). Esta misma enzima descarboxila al 5-hidroxitriptofano (27), para producir serotonina (28), otro neurotransmisor, (Esquema XI).

La ornitina descarboxilasa participa en la síntesis de putrescina (29), la cual a su vez es precursora de la síntesis de las poliaminas: esperaldina (30) y espermina (31), estas sustancias estimulan el crecimiento de microorganismos, tejidos vegetales y de células cultivadas de mamíferos [14], (Esquema XII).

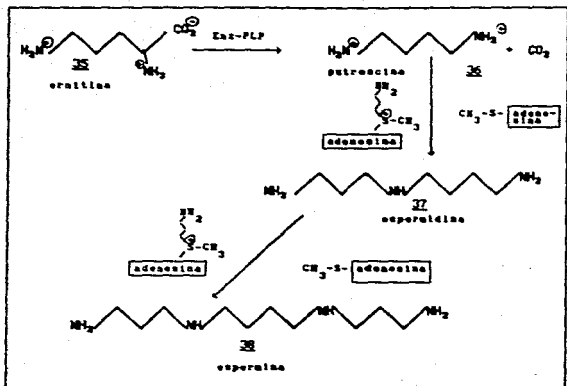
### 2.3 USO DE LOS $\alpha$ -ALQUILAMINOCIDOS COMO FARMACOS.

El uso de los  $\alpha$ -alquilaminocidos como inhibidores puede tener un gran valor práctico. Por ejemplo la L- $\alpha$ -metildopa (3-(3,4-dihidroxifenil) 2-metilalanina), que ya vimos que es un inhibidor de dopa descarboxilasa, se ha utilizado en estudios con pacientes con presión arterial alta, con carcinoma o fenil cetonuria. A estos pacientes se les suministró  $\alpha$ -metildopa y se les midieron los niveles de amina formada en la orina, como un índice de la descarboxilación. Se observó una inhibición muy marcada de la transformación de tirosina, dopa, fenilalanina, triptofano y 5-hidroxitriptofano a su amina correspondiente. Con esto, se pudo comprobar *in vivo* lo que se había observado *in vitro*: la inhibición de la descarboxilación. [15].

Durante la experimentación con  $\alpha$ -metildopa se observaron dos efectos farmacológicos: la sedación al inicio del tratamiento, con la desaparición de este efecto a las 72 horas y el descenso de la presión sanguínea.



Esquema XI. Biosíntesis de algunos neurotransmisores



Esquema XII. Biosíntesis de la espermidina y espermina

Desde que se descubrieron las propiedades hipotensoras de la L- $\alpha$ -metildopa, ha sido utilizada como medicamento para tratar la hipertensión arterial. Se proponen dos efectos para la acción de este compuesto en el cuerpo. 1) La transformación de L-metildopa en un trasmisor falso, metil noradrenalina, que actuaría en las neuronas adrenérgicas centrales relacionadas con la regulación cardiovascular [16, 17]; y 2) la inhibición de dopa descarboxilasa, [17]. Como ya vimos, un factor importante para la inhibición puede ser el contenido de fosfato de piridoxal en las células, por lo que el suministro de la vitamina B<sub>6</sub> en los pacientes que utilizan L- $\alpha$ -metildopa es una variable importante.

La ornitina descarboxilasa transforma a la ornitina en putrescina, un paso necesario en la síntesis de las poliaminas espermidina y espermina. Se piensa que esta enzima tiene un papel regulador en la proliferación celular, por este motivo, se ha tratado de encontrar compuestos que se puedan utilizar como inhibidores de la enzima *in vivo*. La  $\alpha$ -metil ornitina es uno de los compuestos más utilizados, este compuesto impide la proliferación en un cultivo celular de hepatoma de rata: [18], al mismo tiempo, causa un aumento en los niveles de ornitina descarboxilasa. [19].

## 2.4 JUSTIFICACION

Otra aplicación de los  $\alpha$ -alquilaminoácidos y cuya síntesis es el motivo de este trabajo, es la utilización de los mismos en la síntesis de péptidos análogos, que puedan actuar como inhibidores de las enzimas que participan en la transformación de péptidos con actividad biológica.

La comunicación sináptica no es mediada únicamente por los neurotransmisores clásicos, como las monoaminas, aminoácidos o acetil colina; desde los setenta, se ha encontrado una gran cantidad de péptidos que intervienen en la comunicación neuronal y que reciben el nombre de neuropéptidos. Los neuropéptidos intervienen en sistemas homeostáticos, incluyendo la regulación del dolor, presión sanguínea, la temperatura corporal, la sed, el aprendizaje, la memoria y las funciones tróficas. [20].

La mayoría de los péptidos se biosintetizan por rompimiento (procesamiento) de una proteína o "pre-proteína", que se sintetiza en los ribosomas, del retículo endoplásmico rugoso. [21]. El producto inicial del procesamiento, la "pre-proteína", contiene una secuencia "señal" de aminoácidos en el grupo amino terminal. Esta secuencia es removida por una "peptidasa señal" para dar origen al propéptido, que será la molécula precursora de los componentes peptídicos. [20, 22]. La síntesis de péptidos se presenta en la figura 3.



La pro-encefalina A, contiene cuatro secuencias del péptido metionina encefalina, una de Met-encefalina-Arg-Phe-OH y una Met-encefalina-Arg-Gli-OH. Todos estos péptidos con propiedades analgésicas. En el propéptido, la secuencia de aminoácidos que corresponde al péptido activo, se encuentra flanqueada, en ambos extremos, por una secuencia de dos aminoácidos básicos: lisina (Lys) y arginina (Arg). Cuando se efectúa el procesamiento, la secuencia de aminoácidos básicos se elimina por enzimas endopeptidasas tipo tripsina y carboxipeptidasas. (fig. 4).

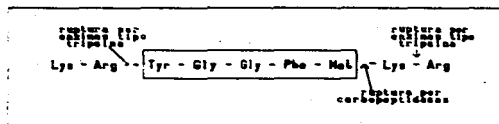


Figura 4. Liberación de metionina encefalina

Se conoce poco acerca de las enzimas que participan en el procesamiento de las moléculas precursoras de los neuropéptidos. Algunos sugieren que cada enzima es específica para un sustrato fisiológico. [24]. Otros creen que existe un número limitado de enzimas de procesamiento que pueden romper diferentes propéptidos en distintos tejidos. Estas enzimas actuarían en un sitio donde existe el par de aminoácidos básicos. En este último caso, la estructura secundaria del sustrato es la que dirigiría la especificidad del procesamiento. Se han realizado algunos estudios al respecto pero ninguna de las hipótesis ha sido plenamente confirmada.

Como se conoce la secuencia de aminoácidos sobre la que actúan las proteasas, se pueden diseñar inhibidores que permitan contribuir a la comprensión de los factores que gobiernan el procesamiento de los neuropéptidos.



Los inhibidores que se van a preparar son los tri péptidos Lys-Arg- $\alpha$ -etilAla y Lys-Arg- $\alpha$ -metilMet. Estos compuestos serán utilizados como inhibidores de las proteasa que procesan a la pro-encefalina.

Para la síntesis de los inhibidores se necesita preparar los aminoácidos modificados en la posición  $\alpha$ , ya que no se encuentran comercialmente. En este trabajo se presenta la síntesis de  $\alpha$ -etilalanina (isovalina) (39) y  $\alpha$ -metilmecionina (40), (figura 5), a partir de su cetona correspondiente. Como la 4-(metiltio)-2-butanona (48), materia prima para la  $\alpha$ -metilmecionina, tampoco se encuentra en el mercado, se tuvo que sintetizar también.

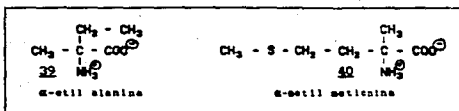


Figura 5

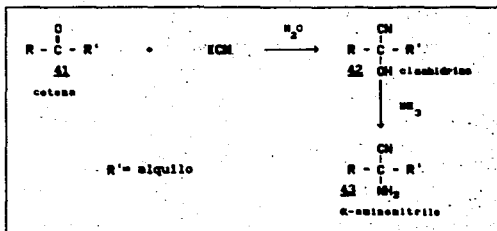
### 2.5 METODOS DE OBTENCION DE LOS $\alpha$ -ALQUILAMINOACIDOS (MEZCLA RACEMICA).

Los métodos de preparación de los  $\alpha$ -alquilaminoácidos son similares a los métodos de obtención de los  $\alpha$ -aminoácidos. Los más utilizados son la síntesis de Strecker y la síntesis de Bucherer a partir de una hidantoína.

### 2.5.1. SINTESIS DE STRECKER

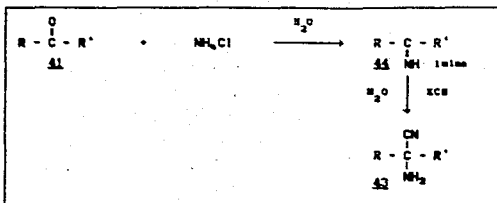
La síntesis de Strecker consiste en hacer reaccionar un aldehído o una cetona (41) con cianuro de sodio o de potasio y cloruro de amonio en agua, para la obtención de  $\alpha$ -alquilaminonitrilo (42). El aminonitrilo se hidroliza al  $\alpha$ -alquil  $\alpha$ -aminoácido correspondiente.

Existen dos vías posibles para la formación del  $\alpha$ -aminonitrilo. La primera consiste en la formación de una cianhidrina (42), que sufre un ataque nucleofílico por amoníaco tal como se presenta en el esquema XIII.



Esquema XIII. Formación de  $\alpha$ -aminonitrilo

La otra vía procede a partir de la adición nucleofílica del amoníaco a la función carbonilo (41), para la obtención de una imina (43), a la cual se le adiciona el nitrilo. Este mecanismo se muestra en el esquema XIV.



Esquema XIV

La reacción de Strecker presenta algunas dificultades, como para que pueda ser utilizada como un método general de síntesis de los  $\alpha$ -alquilaminoácidos. Una de las dificultades es la tendencia de los  $\alpha$ -aminonitrilos a polimerizarse, formando como productos secundarios iminodinitrilos y aminor secundarias; otro problema es la alta solubilidad en agua de los aminonitrilos, por lo que resulta difícil su separación del medio de reacción. Por este último problema, la hidrólisis de los  $\alpha$ -aminonitrilos se tiene que realizar en el mismo medio de reacción, lo que representa pérdidas del aminoácido que se desea obtener por la formación de otros productos residuales. [25,26].

#### 2.4.2 SINTESIS DE BÜCHERER

La síntesis de Bücherer a partir de una hidantoína como intermediario, consiste en hacer reaccionar una cetona con cianuro de sodio o de potasio y un exceso de carbonato de amonio en etanol al 50% como disolvente. La

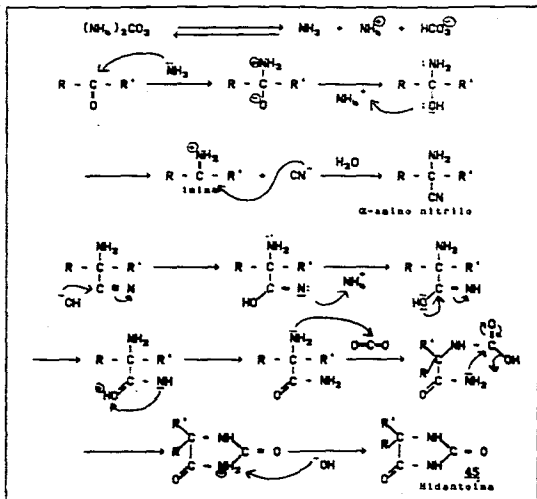
hidantoína que se forma precipita del medio de reacción, por lo que se puede purificar por cristalización para ser hidrolizada posteriormente para la obtención del aminoácido correspondiente.

La síntesis de  $\alpha$ -alquilaminoácidos a partir de una hidantoína puede ser usado como un método general de síntesis de estos compuestos, porque la hidantoína que se forma como intermediario es muy estable, y puede separarse fácilmente del medio de reacción transformándose sin dificultad en el correspondiente aminoácido. [27, 28].

El mecanismo que se propone para la formación de la hidantoína se presenta en el esquema XV.

Una molécula de amoníaco se adiciona nucleofílicamente al carbonilo de la cetona para la obtención de una imina, a la cual se le adiciona el nitrilo para formar un  $\alpha$ -aminonitrilo. El nitrilo sufre un ataque nucleofílico por una base formándose una amida. La función  $\alpha$ -amino se adiciona nucleofílicamente a una molécula de dióxido de carbono y forma un carbamato; el nitrógeno de la función amida ataca al carbamato provocando con esto el cierre del anillo, y la formación de la hidantoína. Si al término de la reacción, de la formación de la hidantoína, las condiciones son ligeramente básicas, puede suceder que el anillo se abra y se forme ácido hidantoico. [25], estructura (46). Cuando se van a preparar hidantoínas sustituidas en la posición 5, como es el caso de las hidantoínas para los  $\alpha$ -alquil  $\alpha$ -aminoácidos, o en la posición 3, el problema de la formación del ácido hidantoico no es tan grande, porque son más estables las hidantoínas sustituidas que las no sustituidas. [27, 31]. De cualquier manera, para evitar la posible formación de algún ácido hidantoico, el medio de reacción se debe acidificar hasta pH 1, con ácido clorhídrico y mantenerlo en ebullición durante 30 minutos.

Otro producto secundario que se puede obtener en la preparación de las hidantoínas, N-carbamidoalquil-N'-nitrilalquilurea, (estructura 47). Este problema se resuelve si se agrega trietil amina como catalizador, [25].



Esquema XV. Mecanismo de síntesis de una hidantoína

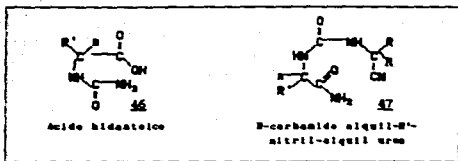
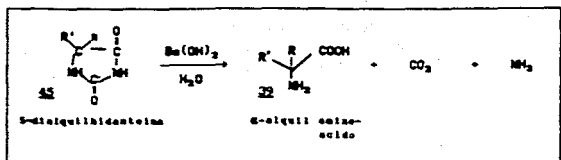


Figura 6

#### HIDROLISIS DE LA HIDANTOINA

Cuando las hidantoinas se calientan por periodos de tiempo relativamente largos, con un exceso de hidróxido de bario en solución acuosa, ocurre un rompimiento más profundo que el de la formación del ácido hidantóico y se forma un  $\alpha$ -aminoácido, [27] La reacción de la hidrólisis se presenta en el esquema XVI.



Esquema XVI. Hidrólisis básica de la hidantoina

### 3. OBJETIVOS.

#### OBJETIVO GENERAL:

Utilizar un método general de síntesis y purificación de  $\alpha$ -alquilaminoácidos a partir de materias primas de fácil adquisición.

#### OBJETIVOS PARTICULARES:

Obtener 5-etil-5-metilhidantoína.

Obtener  $\alpha$ -etilalanina.

Obtener 4-(metiltio)-2-butanona.

Obtener 5-metil-5-(2-metiltioetil) hidantoína.

Obtener  $\alpha$ -metilmencionina.



#### 4. PARTE EXPERIMENTAL

Los espectros de IR se determinaron en un espectrofotómetro Perkin Elmer 599-B. La absorción se da en valores de  $\lambda$  máxima en  $\text{cm}^{-1}$ . Los espectros de  $^1\text{H}$ , RMN se determinaron en un equipo EM-390 (90 MHz). Los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón ( $\delta$ ), utilizando tetrametil silano (TMS) como referencia interna. Las multiplicidades se expresan como: s (singulete), d (doblete), t (triplete), c (cuarteto), m (multiplete). El número de protones asignado por la integración se expresa entre paréntesis. Los puntos de fusión fueron determinados en un aparato Electrothermal y se reportan sin corregir.

##### METODO GENERAL DE SINTESIS DE LAS HIDANTOINAS.

En un matraz bola de un litro se hizo reaccionar 0.2 moles de la cetona correspondiente con 0.2 moles de cianuro de sodio, 0.4 moles de carbonato de amonio y 31.8 ml de trietil amina en 360 ml de etanol al 50%. La mezcla se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 24 horas. Al término de la reacción la solución se llevó a pH 1 con ácido clorhídrico 6 N, se calentó durante 20, se concentró hasta la mitad del volumen y se dejó en refrigeración durante toda la noche hasta la aparición de la hidantoína. La hidantoína formada se recristalizó con agua caliente.

##### METODO GENERAL DE HIDROLISIS DE LAS HIDANTOINAS.

Para efectuar la hidrólisis se colocaron a reflujo durante 60 horas, 0.03 moles de hidantoína con 0.08 moles de hidróxido de bario octahidratado y 250 ml de agua. Al término de la hidrólisis la solución se acidificó hasta pH 1 con ácido sulfúrico 2 N. El sulfato de bario formado se filtró y se concentraron las aguas madres que contenían al aminoácido.

La purificación del aminoácido se realizó por medio de una columna de intercambio iónico de amberlita IR-120, utilizando como eluyente una mezcla de  $\text{NH}_4\text{OH} - \text{H}_2\text{O}$  3:7.

Los productos obtenidos en cada una de las síntesis fueron identificados por cromatografía en capa fina (CPF), siguiendo las técnicas convencionales, por espectroscopía infrarroja (IR) y por espectroscopía de resonancia magnética protónica ( $^1\text{H, RMN}$ ).

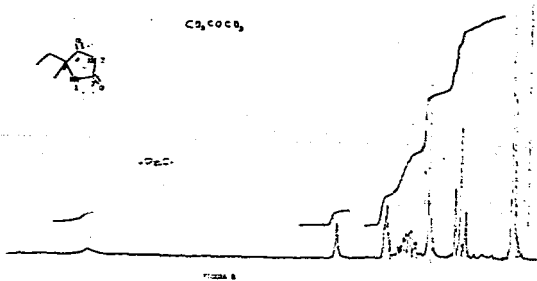
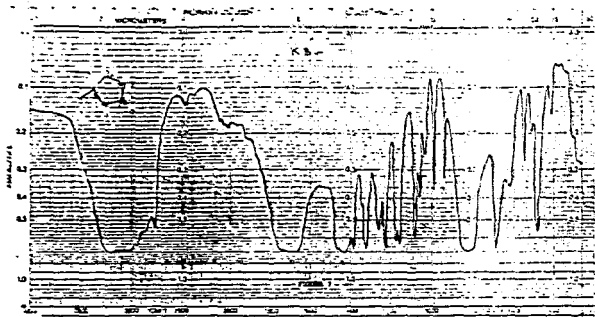
#### SÍNTESIS DE DL-5-ETIL-5-METILHIDANTOINA (45A).

Se hicieron reaccionar 14.4 g de 2-butanona (41) con 9.8 g de cianuro de sodio y 38.4 g de carbonato de amonio según la técnica general de síntesis de hidantoinas. Después de la recristalización con agua, se obtuvieron 15.4 g (54% de rendimiento) de un sólido blanco con punto de fusión  $140^\circ\text{C}$  (literatura  $144^\circ\text{C}$ ) [32]. Y cuyas señales espectroscópicas son las siguientes:

- IR (KBr): 3300-2980, 2785, 1770-1650, 1465, 1420, 1380, 1250. (Fig. 7).  
-  $^1\text{H, RMN}$  ( $\text{CD}_2\text{Cl}_2$ ): 7.1 s (1H, N-1), 3.3 s (1H, N-3), 1.7 m (2H,  $\text{CH}_2\text{-C-5}$ ),  
0 1.4 s (3H,  $\text{CH}_3\text{-C-5}$ ) 0.85 t (3H,  $\text{CH}_3\text{-CH}_2$ ). (fig. 8).

#### SÍNTESIS DE DL- $\alpha$ -ETILALANINA (32).

Se colocaron a reflujo 10 g (0.07 moles) de DL-5-etil-5-metilhidantoina (45A) y 62 g de (0.18 moles) de hidróxido de bario octahidratado en 250 ml de agua durante 60 horas. Una vez que se completó la reacción, la solución se acidificó hasta pH 1 con ácido sulfúrico 2 N. Después de efectuar la acidificación, el sulfato de bario precipitado se eliminó mediante filtración. El aminoácido presente en el filtrado se concentró. La purificación del aminoácido se realizó en una columna de intercambio iónico de amberlita IR-150, utilizando como eluyente una solución de hidróxido de



amonio y agua en una proporción 3:7. Se colectaron fracciones de 100 ml. Las fracciones que contenían el aminoácido 32 se juntaron y se concentraron a 50 °C de temperatura. Se obtuvieron 7.7 g (94% de rendimiento) de un sólido blanco con punto de fusión 308 °C dec. (literatura 307 °C en tubo cerrado) (32). Sus señales espectroscópicas fueron:

- IR (KBr): 3400-2900, 2500, 1625-1580, 1510, 1460, 1415, 1380. (Fig 9).
- <sup>1</sup>H, NMR (D<sub>2</sub>O): 2.6 s (1H, NH), 2.1 m (2H, C-3), 1.7 s (3H, CH<sub>3</sub>-C-2), 1.15 t (3H, C-4). (Fig. 10).

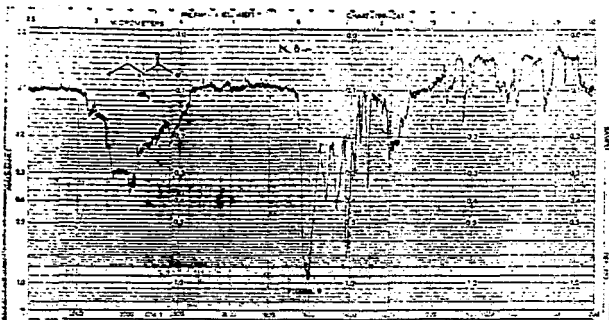
#### PREPARACION DE 4-(METILTIO)-2-BUTANONA. (48).

En un matraz balón de tres bocas, provisto en una de las bocas de un esbudo de adición con llave de paso, en otra boca de un termómetro y en la restante con un globo de nitrógeno. Después de hacer atmósfera de nitrógeno, se adicionaron 21 g (0.03 moles) de metilvinilcetona (49), y 21.6g (0.45 moles) de metilmercaptano (50), previamente licuado. La adición de este último compuesto se realizó lentamente, cuidando que la temperatura no pasara de 0 °C. Se añadieron gota a gota y con agitación, durante 30 minutos, 50 µl de morfina para catalizar la reacción. Una vez que la mezcla de reacción llegó a la temperatura ambiente, se calentó a 60 °C durante 12 horas. El producto de la reacción se extrajo con tres volúmenes de éter etílico, se lavó con ácido clorhídrico y agua y secó sobre sulfato de sodio anhidro. La mezcla con el producto se destiló a presión reducida obteniéndose 26 ml (59% de rendimiento) de un líquido de color amarillo a la temperatura de 78-84 °C a 19 mm Hg (literatura 75 °C a 14 mm Hg) (33).

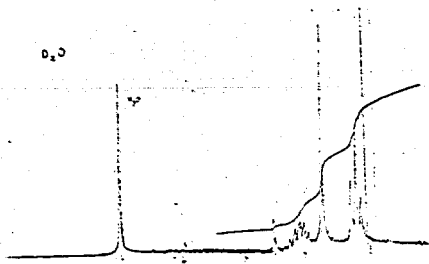
- <sup>1</sup>H, NMR (CD<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>): 2.27 m (4H, C-4 y C-3), 2.2 s (3H, CH<sub>3</sub>-3), 2.09 s (3H, C-1). (Fig. 11).

#### SINTESIS DE DL-5-(2-METILTIOETIL)HIDANTOINA. (45B)

20.2 g (0.17 moles) de 4-(metiltio)-2-butanona (48), se hicieron



D<sub>2</sub>O



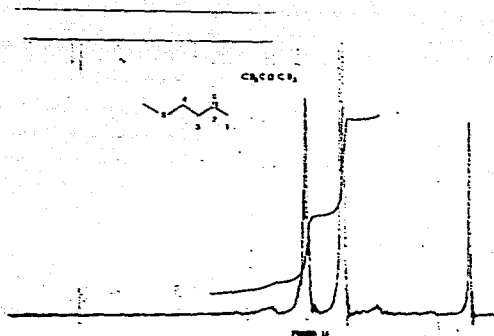


Figure 14

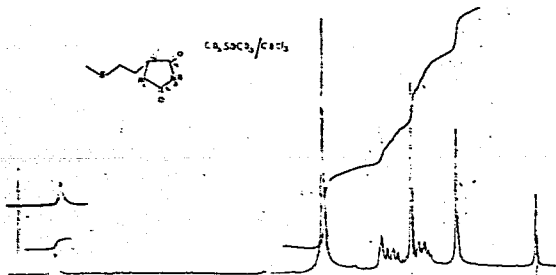
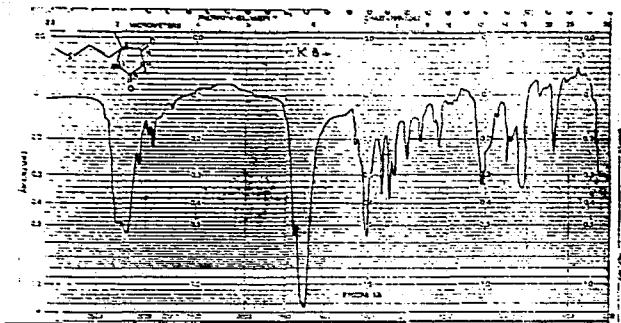
reaccionar con 11.5 g de cianuro de potasio y 32.6 g de carbonato de amonio según el método general de síntesis de hidantoinas que se menciona anteriormente. Después de la recristalización con agua, se obtuvo un sólido de color amarillo que pesó 19.92 g (62% de rendimiento) con punto de fusión 109-111 °C (literatura 109-110 °C) [33].

- IR (KBr): 3320-3180, 2980, 2720, 1760, 1730-1690, 1420, 1320. (Fig. 12).
- <sup>1</sup>H. RMN (CO<sub>2</sub>SOCD<sub>2</sub>): 8.1 s (1H, N-1), 2.3 m (4H, β-CH<sub>2</sub>), 2 s (3H, CH<sub>3</sub>β), 1.7 m (4H, CH<sub>2</sub>-C-5), 1.1 s (3H, CH<sub>3</sub>-5). (Fig. 13).

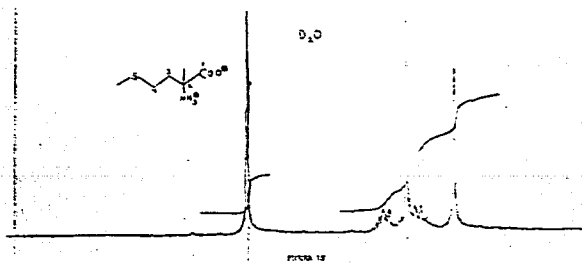
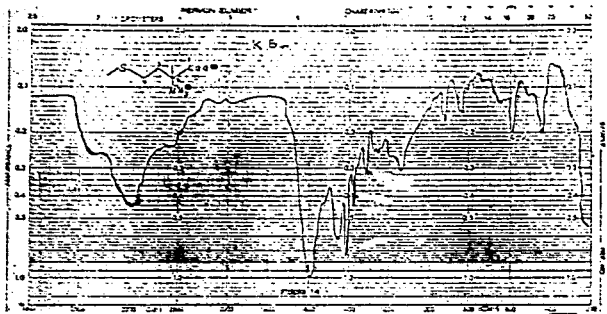
#### SÍNTESIS DE DL-α-METILTIONINA. (4Q).

5 g (0.03 moles) de 5-metil-5-(2-metilheptil)hidantoína (4SR), 25 g (0.08 moles) de hidróxido de bario octahidratado y 250 ml de agua, se calentaron a reflujo durante 60 horas. Al término de la reacción la solución se llevó a pH 1 con ácido sulfúrico 2 N. Se filtró el sulfato de bario formado y la solución que contenía al aminoácido se concentró. El concentrado se pasó por una columna de intercambio iónico, como se menciona en la técnica general de hidrólisis de las hidantoinas. Se obtuvieron 3.98 g (95% de rendimiento) de un sólido de color amarillo, con punto de fusión 280 °C dec. (literatura 283-284 °C dec. ) [33].

- IR (KBr): 3200-2900, 1610-1580, 1460, 1420, 1380, 1320. (Fig. 14).
- <sup>1</sup>H. RMN (D<sub>2</sub>O): 2.9 m (2H, C-4), 2.6 s (3H, CH<sub>3</sub>-3), 2.3 m (2H, C-3), 1.7 s (3H, CH<sub>3</sub>-C-2). (Fig. 15).







## 5. RESULTADOS Y DISCUSION

Para la obtención de 5-etil-5-metilhidantoína (45A) y de 5-metil-5-metiltoetil hidantoína (45B) se siguió el método de síntesis descrito por Holland [25] en la preparación de 5-(metiltioetil)hidantoína (51).

La síntesis de las hidantoínas (45A) y (45B) se realizó a partir de 2-butanona (41) y de 4-(metiltio)-2-butanona (42), respectivamente. Por cada equivalente del compuesto carbonílico se utilizó un equivalente de cianuro de sodio, dos equivalentes de carbonato de amonio y 1.1 equivalentes de trietilamina. La reacción se efectuó en etanol al 50% como disolvente. El tiempo de reacción fue de 24 horas a temperatura ambiente. El uso de la trietil amina como catalizador permitió disminuir la concentración de carbonato de amonio a la mitad y con esto hacer más fácil la disolución de los reactantes y mantener un pH básico al final de la reacción para evitar la formación de ureas disustituidas, [25].

Al hacer la mezcla de los reactivos para la preparación tanto de 45A como de 45B se formó una suspensión, por lo que se tuvo que agitar mecánicamente. Al término de la reacción, a diferencia de la técnica de Holland [25] la solución se acidificó con ácido clorhídrico 6 N sin aislar a la hidantoína correspondiente. Esta modificación se realizó con la finalidad de quitar el exceso de cianuros y carbonato de amonio del medio de reacción y hacer más fácil la manipulación de la hidantoína. Al efectuar la acidificación se presentó un gran desprendimiento de gases, por lo que fue necesario utilizar una trampa para gases con hidróxido de sodio al 40%.

Como se observa en la Tabla No. 1 en la síntesis de la hidantoína de Holland 51 se obtuvo un rendimiento de 89%, y en la preparación de las hidantoínas de este trabajo 45A y 45B los rendimientos fueron de 54% y 62% en cada caso. Es posible que estas diferencias se deban a que para obtener 51 Holland utilizó un aldehído (ver la tabla); en cambio, para obtener 45A y 45B se utilizaron cetonas, que son menos reactivas que los aldehídos.

Probablemente si se hubieran alargado los tiempos de reacción o se hubiera aumentado la temperatura, los rendimientos hubieran sido mejores.

Los compuestos 45A y 45B fueron caracterizados por sus puntos de fusión (Tabla No. 1), por su solubilidad, por su espectroscopia infrarroja (IR) y su resonancia magnética nuclear protónica ( $^1\text{H, RMN}$ ); al comparar los puntos de fusión obtenidos con los reportados en la literatura se pudo observar que son semejantes. Los espectros obtenidos por espectroscopia IR y RMN se presentan en la parte experimental.

El espectro de IR de 45A (figura 7) presenta una señal en 3300-2980  $\text{cm}^{-1}$  que se asignó a una vibración de tensión N-H de isida o ureido cíclico de 5 miembros. Una señal en 1770-1650  $\text{cm}^{-1}$  de carbonilo de isida o de ureido cíclico, [34, 35].

En el espectro de  $^1\text{H, RMN}$  de 45A (figura 8) muestra un singulete en 7.1 ppm que se asigna al protón de amida, un singulete en 3.3 que se asigna al protón de la función isida, un multiplete en 1.7 ppm del metileno del grupo etilo que se encuentra en la posición 5 de la hidantoína. La forma de este multiplete indica que los protones del metileno son diastereotópicos.

El espectro de IR de 45B presenta una señal característica en 3320-3180  $\text{cm}^{-1}$ , en 1760 y en 1730-1680  $\text{cm}^{-1}$  de alargamiento y deformación de S-CH<sub>2</sub>- y de CH<sub>2</sub>-S.

Para la obtención de la hidantoína 45B se tuvo que sintetizar la 4-(metilitio)-2-butanona (48). Este compuesto se preparó a partir de una reacción de adición nucleofílica 1,4, en la cual un nucleófilo se adiciona a un compuesto carbonílico  $\alpha, \beta$ -insaturado. El compuesto carbonílico que se utilizó fue metilvinilicetona (49) y el nucleófilo el metilmercaptano (50). Esta reacción se puede realizar por la conjugación que existe entre el doble enlace y la función carbonilo, de tal manera que cuando el nucleófilo ataca al carbono  $\beta$  se forma un anión que es estabilizado por resonancia con el oxígeno.

El metilmercaptano (50) es un nucleófilo débil y ataca al carbono de la cetona insaturada 49 formándose un carbanión que es estabilizado por



multiplete en 2.72 ppm que integra para cuatro protones que se asignó a los hidrógenos del C-4 y el C-3, un singlete en 2.2 ppm que puede ser de  $\text{CH}_3\text{-S}$  y un singlete en 2.09 ppm que se asignó a los hidrógenos del C-1. (Fig. 11).

En el rompimiento hidrolítico de las hidantoínas para la obtención de  $\alpha$ -etilalanina (32) y de  $\alpha$ -metilmetonina (40) se siguió como base el método reportado por Pfister [33] en la síntesis de  $\alpha$ -metilmetonina [40], aunque modificando la concentración de los reactantes, el tiempo de hidrólisis y la técnica de purificación del aminoácido. Por cada equivalente de hidantoína se utilizaron 2.6 equivalentes de hidróxido de bario. Considerando que la relación estequiométrica de la hidrólisis es de un equivalente de hidantoína por 0.5 equivalentes de hidróxido de bario se pensó que un exceso de 2.1 equivalentes era más que suficiente. El tiempo de hidrólisis se prolongó hasta 60 horas tomando en cuenta que las hidantoínas disustituidas son muy estables. La purificación del aminoácido se realizó por medio de una columna de intercambio iónico con el fin de hacer más eficiente la recuperación del aminoácido.

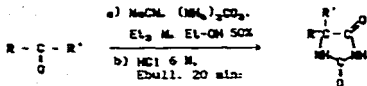
Como se observa en la Tabla No. 2 las condiciones utilizadas en este trabajo fueron adecuadas para la hidrólisis de las hidantoínas ya que se tuvieron rendimientos arriba del 90% a diferencia de las condiciones de Pfister con las cuales el rendimiento fue de 45%.

La  $\alpha$ -etilalanina (32) y la  $\alpha$ -metilmetonina (40) se caracterizaron por cromatografía en capa fina (CCF), por su punto de fusión, por espectroscopía IR y de  $^1\text{H, NMR}$ .

En la obtención de la  $\alpha$ -etilalanina (32) se alcanzó un rendimiento de 94% de un sólido blanco con punto de fusión de 308 °C.

El espectro de IR de 32 (figura 9) presenta una señal en la región de 3400-2900  $\text{cm}^{-1}$ , de alargamiento simétrico y asimétrico de  $\text{NH}_3^+$ , un sobretono en 2500  $\text{cm}^{-1}$  de  $\text{NH}_3^+$ , una absorción en 1625-1580  $\text{cm}^{-1}$  de alargamiento simétrico y asimétrico de  $\text{COO}^-$  una señal de deformación de  $\text{NH}_3^+$  en 1510 y una señal de deformación de  $\text{COO}^-$  en 1415  $\text{cm}^{-1}$ .

TABLA 1 (HIDANTOIMAS)



5S : R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, R' = CH<sub>3</sub>

5SB : R = CH<sub>3</sub>SC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, R' = CH<sub>3</sub>

MATERIA PRIMA	CH <sub>3</sub> SC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> CHO	CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> COCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub> SC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> COCH <sub>3</sub>
SUSTITUYENTES EN EL PRODUCTO	R CH <sub>3</sub> SC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> R' H	CH <sub>2</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub> SC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>
PRODUCTO	5I (2S)	5SA	5SB
CONDICIONES DE REACCION	24 HORAS (TEMPERATURA AMBIENTE)		
PUNTO DE FUSION DEL PRODUCTO OBTENIDO (C)	—	140	109-111
PUNTO DE FUSION DEL PRODUCTO REPORTADO (C)	108	144(32)	109-110(33)
RENDIMIENTO	89%	54%	62%

El espectro de  $^1\text{H-RMN}$  de 39 (figura 10) presenta un multiplete en 2.1 ppm que integra para dos hidrógenos de la señal de  $-\text{CH}_2-$  un singulete que integra para tres hidrógenos que puede ser de  $\text{CH}_3-\text{C}-2$ , un triplete en 1.15 ppm que integra para tres hidrógenos del C-4.

En la preparación del  $\alpha$ -metilmetionina (40) se obtuvo el 95% de rendimiento de un sólido de color amarillo con punto de fusión  $290^\circ\text{C}$  dec.

El espectro de IR de 40 (figura 14) presenta una banda de absorción de alargamiento simétrico y asimétrico de  $\text{NH}_3^+$  en  $3200-2900\text{ cm}^{-1}$ , una señal en  $1610-1580\text{ cm}^{-1}$  de alargamiento de  $\text{COO}^-$ , una señal en  $1420\text{ cm}^{-1}$  que se asignó a  $-\text{CH}_2-\text{S}$  y una señal en  $1320\text{ cm}^{-1}$  que se asignó a  $\text{CH}_2-\text{S}$ .

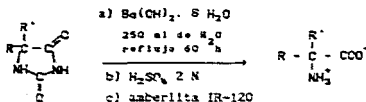
El espectro de  $^1\text{H-RMN}$  de 40 (figura 15) presenta un multiplete que integra para dos hidrógenos en 2.9 ppm asignado a  $-\text{CH}_2-\text{C}$  y un singulete en 1.7 ppm de  $\text{CH}_3-\text{C}-2$ .

La preparación de los  $\alpha$ -alquilaminoácidos a partir de una hidantoína como intermediario se estudió para conocer las condiciones más adecuadas en su síntesis. Pues si bien se ha reportado ya la obtención de algunos  $\alpha$ -alquilaminoácidos, era necesario adaptar este método a las condiciones prevalentes para que pueda ser usado como una metodología rutinaria de síntesis. Los  $\alpha$ -alquilaminoácidos se tienen que preparar porque son necesarios como sustratos para la preparación de análogos peptídicos y no hay una buena disponibilidad de estos compuestos en el mercado.

El rendimiento total en la obtención de  $\alpha$ -etilalanina (39) a partir de 2-butanona 41 fue de 51%, en tanto que el rendimiento de  $\alpha$ -metilmetionina (40) a partir de 4-(metiltio)-2-butanona (42) fue de 59%. Aun cuando estos rendimientos puedan ser considerados como buenos, tal vez, aumentando la temperatura en la síntesis de las hidantoínas puedan mejorarse.

Se pudo observar al efectuar la síntesis que las hidantoínas son sólidos muy estables que se separan fácilmente del medio de reacción y se pueden purificar por recristalización en agua con una recuperación muy alta. El tiempo de hidrólisis de las hidantoínas para la obtención de los  $\alpha$ -alquilaminoácidos más adecuado fue de 60 horas ya que se obtuvieron

TABLA 2 ( $\alpha$ -ALQUILAMINOCIDOS)



29 : R = CH<sub>3</sub>      R' = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>

40 : R = CH<sub>2</sub>SC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>    R' = CH<sub>3</sub>

HIDANTOINA	45B	45A	45B
PRODUCTO	40 (33)	29	40
SUBSTITUYENTES DEL PRODUCTO	R CH <sub>2</sub> SC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> R' CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	CH <sub>2</sub> SC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> CH <sub>3</sub>
CONDICIONES DE REACCION	REFLUJO HASTA DESPARECIMIENTO TOTAL DE NH <sub>3</sub>	REFLUJO 60 HRS.	
PUNTO DE FUSION DEL PRODUCTO OBTENIDO (C)		308	360
PUNTO DE FUSION DEL PRODUCTO REPORTEADO (C)	363-384 (33)	307 (32)	383-384 (33)
RENDIMIENTO	45%	94%	95%



rendimientos cuantitativos de los aminoácidos después de su purificación a través de una columna de intercambio iónico.

Los reactivos utilizados para la síntesis de las hidantoinas se pueden adquirir fácilmente y el material y equipo que se utilizó fue el básico de un laboratorio de química orgánica.

## 6. CONCLUSIONES

Se realizó la síntesis, aislamiento, purificación y caracterización de  $\alpha$ -etilalanina (39) y  $\alpha$ -metilmecionina (40) por rompimiento hidrolítico de su hidantoína correspondiente.

Se efectuó la preparación de las hidantoínas intermediarias 5-etil-5-metilhidantoína (45A) y 5-metil-5-(metiltioetil)hidantoína (45B).

El tiempo de hidrólisis de las hidantoínas de 60 horas fue el más adecuado para la obtención de los  $\alpha$ -alquilaminoácidos.

Aunque los rendimientos en la obtención de los aminoácidos pueden considerarse como buenos se podrían mejorar alargando los tiempos de reacción en la obtención de las hidantoínas o aumentando la temperatura.

## 7. BIBLIOGRAFIA

1. Pandey, R. C.; Meng, H.; Cook, J. C.; Rinehart, K. L.; *J. Am. Chem. Soc.*; **99**, 5203-5205 (1977).
2. Mori, Y.; Tsuboi, M.; Suzuki, M.; Fukushima, K.; Arai, T.; *J. Am. Chem. Soc. Chem. Com.* **94** (1982).
3. Demian, A. L.; *Arch. Biochem. Biophys.* **64**, 74-79 (1956).
4. *Chem. Abstr.*; **51**, 6702 i (1957).
5. *Chem. Abstr.*; **52**, 11114 b (1958).
6. Christensen, H. H.; Aspen, A. J.; Rice, E. G.; *J. Biol. Chem.* **220**, 287-294 (1956).
7. *Essay, S. J.; Biochemistry*, Harper and Row, New York (1983). pp. 418-424.
8. Abeles, R. H.; Maycock, A. L.; *Accounts Chemical Research*, **9**, 313-319 (1976).
9. Roberts, E. J.; *Biol. Chem.* **202**, 359-367 (1953).
10. O'Leary, H. H.; Baughn, R. L.; *Biol. Chem.* **252**, 7168-7173 (1977).
11. O'Leary, H. H.; Herried, R. M.; *Biochemistry*, **17**, 1010-1014 (1978).
12. Voltattori, B.; *FEBS Lett.* **17**, 231-235 (1971).
13. Sukhareva, B. S.; Branstain, A. E.; *Mol. Biol.* **5**, 302-317 (1971).
14. Adiel-Hassan, H. H.; Newton, E. H.; Ho, C. H.; Weeks, E. Ch.; *J. Med. Chem.* **18**, 600-604, (1975).
15. Sjoerdsma, A.; *Biochemical Pharmacology*, **8**, 164 (1961).
16. Bruma, W. C.; Sand, M. J.; *FARMACOLOGIA. Bases Bioquímicas y Patológicas. Aplicaciones Clínicas*, 2ª Edición, Interamericana, Méx. D.F. (1984). pp 3-6.
17. Goodman, L. S.; Gilman, A.; *BASES FARMACOLOGICAS DE LA*

TERAPEUTICA, 5ª Edición. Interamericana, M x. (1978).

18. Mamont, P. S.; B hlen, P.; Mc Cann, P. P.; Bay, P. Schuber, F.; Tardif, Ch. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 73, 1626-1631 (1976).
19. Litnack, G.; Rosenfield, S.; Bioch. Biophys. Res. Comm. 52, 181-188 (1973).
20. Penantes, M. H.; Aréchiga, H.; compiladores. AMINOACIDOS Y PEPTIDOS EN LA INTEGRACION DE FUNCIONES NERVIOSAS, UNAM, Méx. (1983).
21. Bailey, A. H. (editor). ANNUAL REPORTS IN MEDICINAL CHEMISTRY, Vol. 21, Academic Press, London-New York (1986), pp 51-62.
22. Lewis, R. V.; Stern, A. S.; Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 23, 253-272 (1983).
23. Jeffrey, C.; Joyce, F. L.; Eur. J. Biochem. 67, 303-316 (1976).
24. Palen, K. T., Uppij, M. B.; Wilson, B. I.; Harris, E. R.; Arch. Biochem. Biophys. 251, 543-548 (1986).
25. Holland, B. O.; Bayler, J. H.; J. Chem. Soc. 3403-3409 (1952).
26. Cook, A. H.; Cox, S. F.; J. Chem. Soc. 2334-2337 (1949).
27. Ware, E.; Chem. Rev. 56, 403-470 (1950).
28. Cook, A. H.; Cox, S. F.; J. Chem. Soc. 2342-2348 (1949).
29. Piersen, E.; Giella, H.; Tishler, H.; J. Am. Chem. Soc. 70, 1630-1651 (1948).
30. March, J. ADVANCED ORGANIC CHEMISTRY: Reaction, Mechanisms and Structures. Second Edition. Mc. Graw-Hill. Tokyo (1977).
31. Goodman, L. H.; Haugberg, I. L.; Lehman, J. L.; Burton, W. E.; J. Org. Chem. 25, 1920-1924 (1960).
32. Sidney, U.; Otis, C. B.; J. Org. Chem. 22, 799 (1957).
33. Pfister, E.; Lennan, W. J.; Coobere, J. P.; Becker, H. J.; Matzok, A. R.; Rogers, E. F.; J. Am. Chem. Soc. 77, 697-700

(1955).

34. Makanihi, K.; *INFRARED ABSORPTION SPECTROSCOPY*. Second Edition. Holden-Day. San Francisco (1977).
35. Simeon, V.; Clerc, T.; *ELUCIDACION ESTRUCTURAL DE COMPUESTOS ORGANICOS POR METODOS ESPECTROSCOPICOS*. Tomo 1, (tablas). Alhambra. Madrid (1977).
36. Griffith, W. O.; Weister, A. J.; *Biol. Chem.* 253. 2333-2338 (1978).