

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**  
**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



TESIS DOCTORAL

**Síntesis de ácidos 1-amino-2-arilciclopropanocarboxílicos y estudio de su acción sobre dopa descarboxilasa**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**Olga Cuevas Fernandez**

DIRECTOR:

**E. Fernández Álvarez**

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE  
DE MADRID

FACULTAD DE CIENCIAS  
QUIMICAS



T1  
507  
CUE

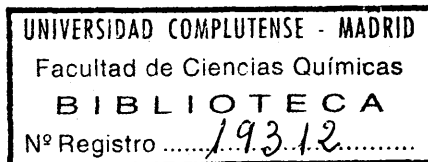
SINTESIS DE ACIDOS 1-AMINO-2-ARILCICLOPROPANOCARBOXILICOS  
Y ESTUDIO DE SU ACCION SOBRE DOPA DESCARBOXILASA

TESIS

Para optar al grado de Doctor en Ciencias Químicas

por

OLGA CUEVAS FERNANDEZ



Instituto de Química Orgánica General del CSIC. Departamento de  
Productos Naturales. Sección de Enzimoquímica - MADRID

Este trabajo ha sido realizado en la Sección de Enzimoquímica (Departamento de Productos Naturales) del Instituto de Química Orgánica General del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (Madrid), bajo la supervisión del Profesor de Investigación Dr. E. Fernández Alvarez, Jefe del Departamento, que nos propuso el tema, y la dirección del mismo y del Investigador Dr. M. Bernabé Pajares, a quienes expreso mi más sincero agradecimiento.

Agradezco al Profesor Dr. R. Pérez-Alvarez Ossorio, Catedrático de Química Orgánica y Jefe del Departamento en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid, el haber aceptado ser Ponente de esta Tesis y al Profesor Dr. F. Fariña, director del Instituto de Química Orgánica por las facilidades que nos ha prestado para la realización del trabajo.

Asimismo, doy las gracias a los Dres. C. Elorriaga y O. Nieto por su ayuda en los ensayos biológicos; al personal del Departamento de Técnicas Instrumentales del Instituto por su colaboración en la realización de los microanálisis y registro de espectros, y a cuantos compañeros nos han prestado ayuda o colaboración.

Finalmente, agradezco muy en particular la colaboración de la Srta. Lourdes Sánchez en la preparación de intermediarios de síntesis y el haberse tomado el trabajo de mecanografiar esta Memoria.

Madrid, Febrero de 1977

## INDICE

### PARTE I

#### OBJETIVOS Y JUSTIFICACION DEL TRABAJO

	Pág.
Objetivos y justificación del trabajo .....	1
Descarboxilasa de aminoácidos aromáticos .....	4
Sustratos .....	6
Inhibidores .....	7
Antecedentes sobre la síntesis de ácidos 1-amino-2- aryl-ciclopropanocarboxílicos .....	14
Elección de sustituyentes y esquema general de síntesis .....	25

### PARTE II

#### SINTESIS DE ACIDOS 1-AMINO-2-ARIL-CICLOPROPANOCARBOXILICOS.- TEORIA Y DISCUSION DE METODOS Y RESULTADOS

##### I.- PREPARACION Y PROPIEDADES DE LAS 4-ARILIDEN-5(4H) TIAZOLONAS

1.- Síntesis .....	28
2.- Espectros IR .....	33
3.- Espectros RMN .....	34
4.- Estereoquímica .....	35

##### II.- PREPARACION Y PROPIEDADES DE 1-ARIL-5-BENCILTIO (6 benciloxi)-6-TIO-4-AZA-ESPIRO-(2,4)HEPT-4-EN-7-ONAS

1.- Síntesis del anillo de ciclopropano .....	37
2.- Adición de diazometano a las 4-arylidén-5(4H)- tiazolonas .....	40
3.- 1-aryl-5-benciltio (6 benciloxi)-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas .....	47

	Pág.
4.- Espectros IR .....	48
5.- Espectros RMN .....	49
6.- Estereoquímica .....	50
III.- REACCIONES DE HIDROLISIS BASICA DE LAS 1-ARIL-	
-5-BENCILTIO (ó benciloxi)-6-TIO-4-AZA-ESPIRO-	
-(2,4)HEPT-4-EN-7-ONAS	
1.- Hidrólisis básica de las 1-aril-5-benciloxi-6-	
-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas .....	52
2.- Hidrólisis básica de las 1-aril-5-benciltío-6-	
tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas .....	55
3.- Hidrocloruros de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclo	
propanocarboxílicos .....	60
4.- Espectros IR de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclo-	
propanocarboxílicos y de sus correspondientes hi	
drocloruros .....	61
5.- Espectros RMN .....	61
6.- Estereoquímica .....	62
7.- Espectros de masas .....	64
Productos de apertura del anillo de tiazolona	
8.- Espectros IR .....	65
9.- Espectros RMN .....	66
10- Espectros de Masas .....	67
Acidos 1-tiocarbonil-3,4-metilén-tetrahidroisoquino	
leín -3-carboxílicos	
11- Espectros IR .....	68
12- Espectros RMN .....	69
IV.-TRATAMIENTO CON ACIDOS DE LAS 1-ARIL-5-BENCIOXI	
(ó benciltío)-6-TIO-4-AZA-ESPIRO-(2,4)HEPT-4-EN-	
-7-ONAS Y DE LOS ACIDOS 1-AMINO-2-ARIL-CICLOPRO-	
PANO-CARBOXILICOS .....	
	71
1.- Tratamiento con BrH/AcH .....	72

2.- Tratamiento con Br <sub>3</sub> B .....	73a
Hidrocloruros de 2-amino-4-aril- $\gamma$ -butirolactonas	
3.- Espectros IR .....	73b
4.- Espectros RMN .....	73c
V.- CONDENSACION DEL HIDROCLORURO DE 1-AMINO-2-(3-HI DROXIFENIL)-CICLOPROPANOCARBOXILICO CON FOSFATO DE PIRIDOXAL .....	74

### PARTE III

#### SINTESIS DE ACIDOS 1-AMINO-2-ARIL-CICLOPROPANOCARBO- XILICOS Y DERIVADOS

##### A.- RESULTADOS EXPERIMENTALES

Técnicas generales .....	77
I.- Preparación de 1-bencilitío (ó benciloxi)-4-arilidén-5(4H)-tiazolonas .....	79
II.- Reacciones de adición de diazometano a las 4-arilidén-5(4H)-tiazolonas .....	92
III.- Reacciones de hidrólisis de las espirotiazolonas .....	105
1.- Hidrólisis básica parcial: Apertura del anillo de tiazolona .....	105
2.- Hidrólisis básica total: Acidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos .....	107
3.- Hidrólisis ácida: Hidrocloruro de la 2-amino-4-fenil- $\gamma$ -butirolactona .....	119
IV.- Tratamiento con ácidos inorgánicos de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos ...	120
V.- Tratamiento de los ácidos 1-amino-2-metoxiaril-ciclopropanocarboxílicos con agentes desmetilantes .....	124

VI.- Preparación de los benzoílderivados de los ésteres metílicos de los ácidos 1-amino-2-aryl-ciclopropanocarboxílicos .....	127
VII.- Condensación del hidrocioruro de 1-amino-2-(3-hidroxifenil)-ciclopropanocarboxílico con fosfato de piridoxal .....	129
B.- <u>TABLAS DE RESULTADOS ANALITICOS Y DATOS ESPECTROSCOPICOS IR Y RMN</u> .....	131

PARTE IV

ACTIVIDADES DE LOS ACIDOS 1-AMINO-2-ARIL-CICLOPROPANOCARBOXILICOS COMO SUSTRATOS Y COMO INHIBIDORES DE LA DESCARBOXILASA DE AMINOACIDOS AROMATICOS

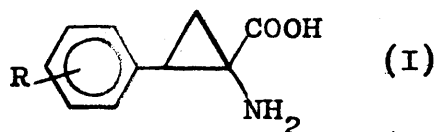
INTRODUCCION .....	207
PARTE EXPERIMENTAL Y RESULTADOS	
1.- Preparación de Dopa-descarboxilasa .....	210
2.- Determinación manométrica de Dopa-descarboxilasa .....	212
3.- Ensayo de productos como sustratos .....	220
4.- Ensayo de productos como inhibidores .....	223
5.- Dependencia del grado de inhibición de la concentración del inhibidor .....	225
6.- Efecto de la concentración de (P-5'-P) en el grado de inhibición .....	227
7.- Ensayos de inhibición por los productos de reacción del compuesto 10 con (P-5'-P) .....	230
8.- Carácter reversible o irreversible de la inhibición por el compuesto 10 .....	233
DISCUSION DE RESULTADOS .....	235
CONCLUSIONES .....	241
BIBLIOGRAFIA .....	250

PARTE I

OBJETIVOS Y JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

OBJETIVOS Y JUSTIFICACION DEL TRABAJO

El objeto de este trabajo es la preparación de una serie de ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos de fórmula general (I), y el estudio "in vitro" de su actividad como -



sustratos e inhibidores de la descarboxilasa de L-aminoácidos aromáticos (DAA).

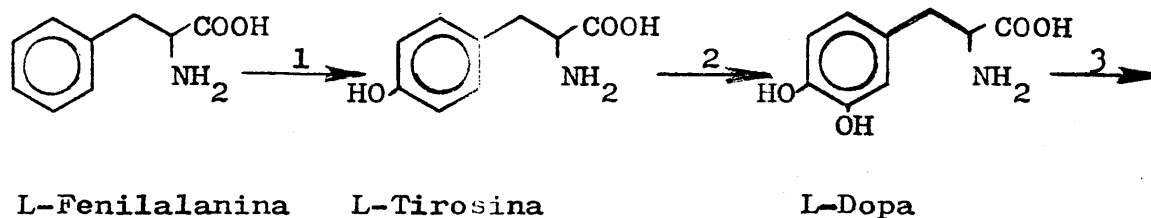
Esta enzima interviene en la biosíntesis de ciertas aminas biógenas, que se pueden clasificar en tres grupos: catecolaminas; histamina y derivados; serotonina y afines.

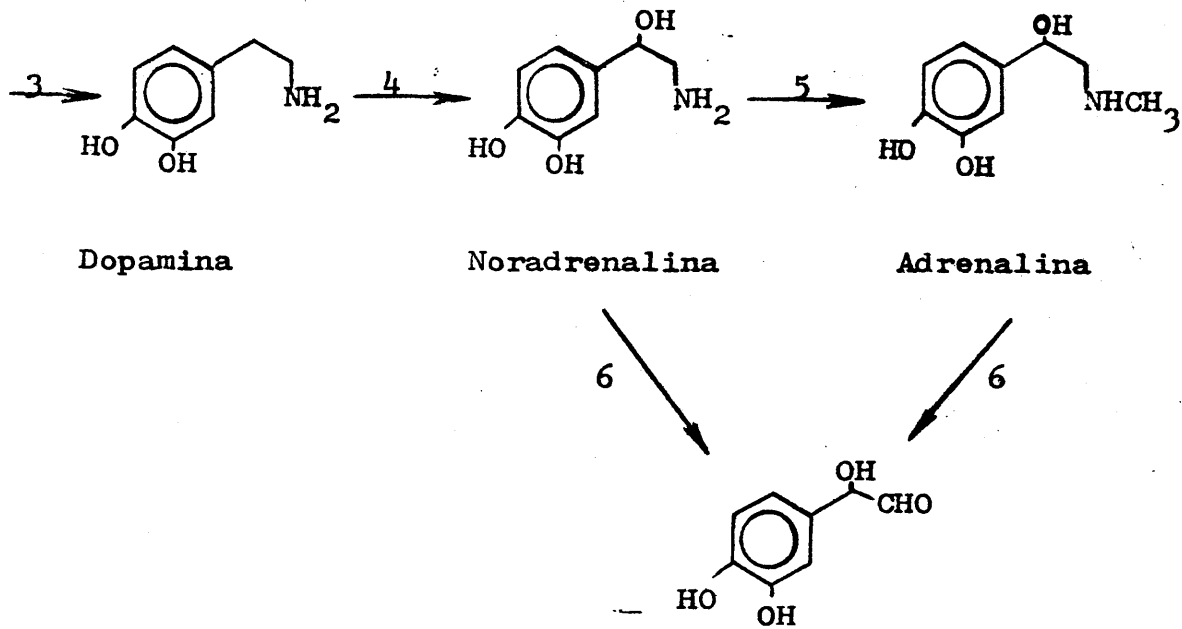
En los siguientes esquemas indicamos las rutas de biosíntesis más importantes para dichos grupos de aminas:

a) CATECOLAMINAS

Incluyen esencialmente la dopamina, la noradrenalina o norepinefrina y la adrenalina o epinefrina, todas producidas esencialmente a partir del aminoácido L-fenilalanina como precursor común. Por otra parte, todas ellas se metabolizan e inactivan esencialmente por desaminación oxidativa a través de m-O-metilación.

El esquema siguiente ilustra sus estructuras y las reacciones implicadas en su biosíntesis y metabolismo:

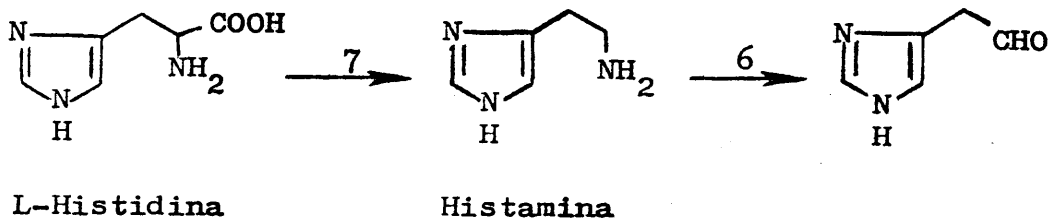




- 1 = Fenilalanina hidroxilasa
- 2 = Tirosina hidroxilasa
- 3 = Descarboxilasa de L-aminoácidos aromáticos (DAA)
- 4 = Dopamina hidroxilasa
- 5 = Feniletanolamina N-metiltransferasa
- 6 = Monoaminoxidasa (MAO)

b) HISTAMINA

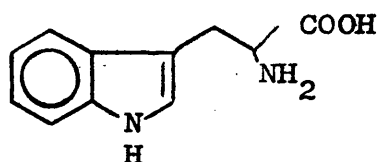
Tiene como precursor el aminoácido L-histidina y se metaboliza esencialmente por desaminación oxidativa:



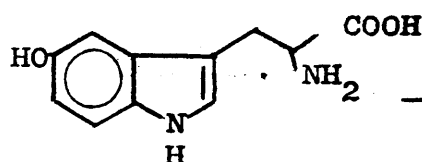
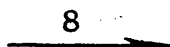
- 6 = Monoaminoxidasa (MAO)
- 7 = Histidina descarboxilasa

c) SEROTONINA

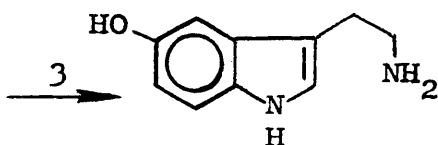
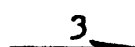
Se produce a partir del aminoácido L-triptofano y se metaboliza esencialmente por desaminación oxidativa o por O-metilación sobre el OH en C<sub>5</sub>:



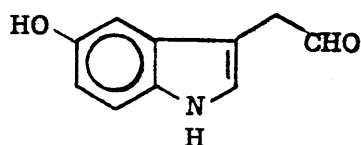
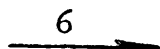
L-Triptofano



L-5-hidroxi-triptofano



Serotonina



3 = Descarboxilasa de L-aminoácidos aromáticos

6 = Monoaminooxidasa (MAO)

8 = Triptofano 5-hidroxilasa

En estas secuencias de reacciones de biosíntesis y de metabolismo intervienen esencialmente los siguientes tipos de enzimas: en la biosíntesis, hidroxilasas y descarboxilasa de aminoácidos aromáticos; en el metabolismo, aminooxidasa y O-metiltransferasas.

Dentro del grupo de las aminas biógenas, las catecolaminas y la serotonina, de forma y con funciones diferenciales todavía no claramente delimitadas, actúan como neurotransmisores adrenérgicos, de manera similar a como lo hace la acetilcolina en los sistemas colinérgicos. Por esta razón, la modulación de la biosíntesis y del metabolismo de catecolaminas y de serotonina es de importancia esencial en la regula-

ción del sistema nervioso central (SNC) y particularmente en el control de las actividades psíquica y cardiovascular.

Un nivel elevado de aminas produce estados de histeria, excitación, agitación, etc..., mientras que un bajo nivel de las mismas conduce a estados depresivos, apatía, estupor, etc...

A la vista de todo esto, se puede prever la importancia de actuar sobre los sistemas enzimáticos que regulan la biosíntesis y el metabolismo de las aminas biógenas. Así, actuando sobre la descarboxilasa de forma que se inhiba su acción, se producirá un descenso en el nivel de las bioaminas y, como consecuencia, un efecto sedante e hipotensor, mientras que la inhibición de la aminooxidasa impediría la destrucción de aquellas, produciéndose un efecto estimulante e hipertensor.

Es, por lo tanto, de gran interés farmacológico el estudio de las características de la descarboxilasa de aminoácidos aromáticos, así como su distribución y su inhibición por compuestos selectivos.

Así, por ejemplo, en la terapéutica del parkinsonismo, enfermedad del SNC que origina deficiencia de dopamina a nivel de los ganglios basales, esta bioamina no se puede suministrar directamente por la dificultad que encuentra para atravesar la barrera hematoencefálica, por lo que se administra en forma de su precursor L-Dopa junto con ciertos inhibidores de descarboxilasas que impiden su destrucción periférica y le permiten llegar a su objetivo el SNC, donde es descarboxilado, originando la necesaria dopamina.

#### DESCARBOXILASA DE AMINOACIDOS AROMATICOS (1) (2)

La distribución de esta enzima en los mamíferos es muy amplia, encontrándose en el intestino, cerebro, corazón, pulmones, etc..., pero principalmente en el hígado y el riñón.

En cuanto a su especificidad, es todavía un punto oscuro,

descarboxila un gran número de aminoácidos aromáticos aunque lo hace en diferentes grados.

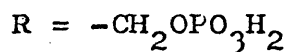
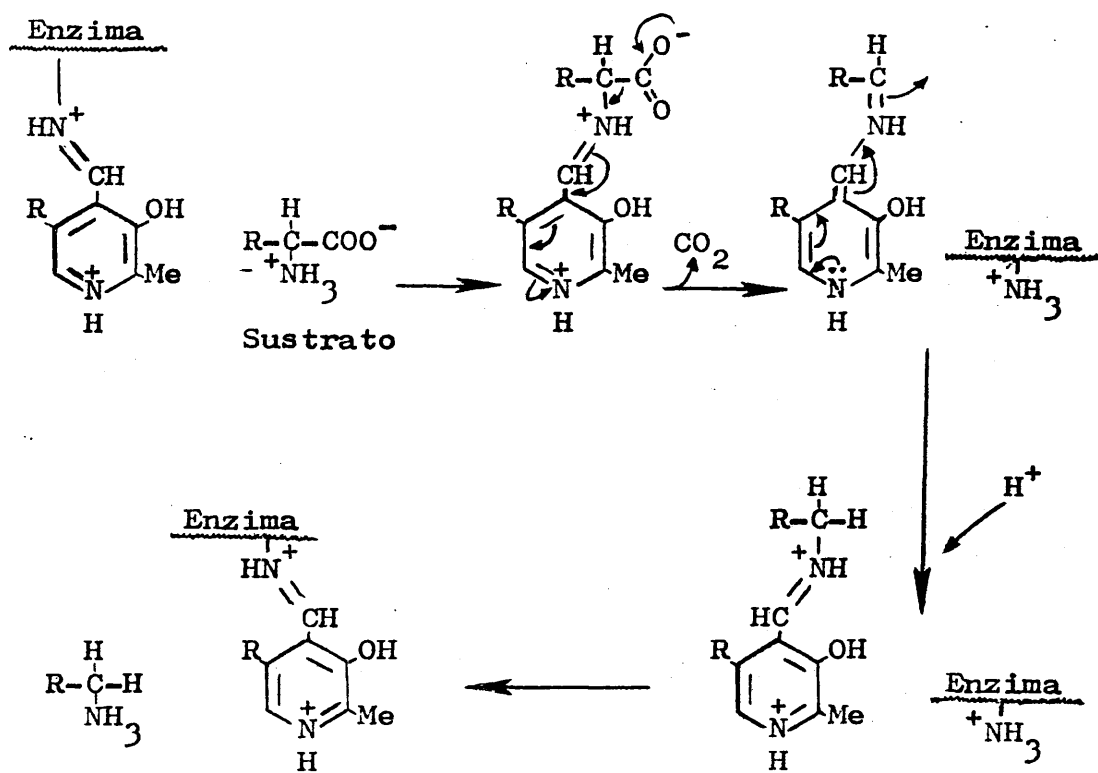
El aminoácido L-Dopa es uno de los mejores sustratos, y algunos autores admiten la diferenciación de una enzima con el nombre de L-Dopa descarboxilasa, aunque cada día esta postura parece menos justificada.

### Coenzima

Esta enzima depende del fosfato de piridoxal (P-5'-P) como coenzima. Parte del (P-5'-P) está fuertemente unido a la apoenzima (proteína enzimática) como base de Schiff, mientras que otra parte es dializable (3).

### Mecanismo de acción

A continuación se da un breve esquema sobre el mecanismo de descarboxilación, modificación del propuesto por Metzler (4):



primeramente ocurre una transaldiminación entre el complejo enzima-(P-5'-P) y el sustrato, formándose una base de Schiff entre el (P-5'-P) y el aminoácido; el siguiente paso es la pérdida de CO<sub>2</sub> para formar un compuesto intermedio, no aislado, que por captación de un protón del medio, da la base de Schiff correspondiente a la amina procedente del aminoácido descarboxilado; por último, la hidrólisis libera la amina y recupera el (P-5'-P).

Los experimentos de descarboxilación en agua deuterada, demuestran que el H en α del aminoácido no interviene en la descarboxilación, ya que solo se introduce un átomo de deuterio en el C en α del producto (5).

La presencia del enlace azometino se demuestra por la reducción del compuesto con BNaH<sub>4</sub> (6).

En cuanto a la forma de unirse la coenzima (P-5'-P) a la apoenzima, parece ser que tiene lugar a través de tres puntos: grupos fosfato, fenólico y aldehído, este último a través de la reacción con un grupo ε-amino de un resto del aminoácido lisina de la proteína enzimática (7).

### Sustratos

Una gran variedad de aminoácidos aromáticos sirven como sustratos de la DAA.

En un trabajo de Lovenberg y col. (8), con preparaciones de riñón de conejillo de indias, se muestra la actividad relativa de la DAA para diferentes sustratos. La relación de sustratos por orden decreciente de actividad es la siguiente:

L-Dopa > L-o-tirosina > L-m-tirosina > L-5-HTP > L-triptofano > L-fenilalanina > L-tirosina > L-α-metildopa > L-α-metil-5-HTP > L-histidina > L-α-metiltriptofano > L-α-metil-m-tirosina.

Prestando atención a los derivados de fenilalanina, se notará que, aunque la sustitución o y m hidroxílica promueven la descarboxilación, la p-sustitución aromática la disminuye. También la presencia de un grupo α-metilo en la mo

lécua disminuye la velocidad de descarboxilación.

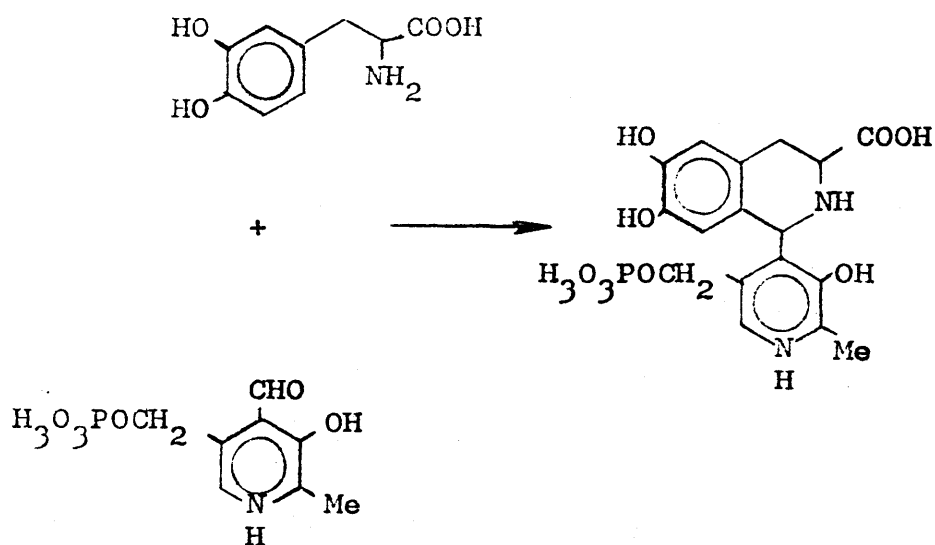
### Inhibidores

Visto el supuesto mecanismo de acción de la DAA, puede especularse sobre qué tipos de productos influyen sobre esta enzima, inhibiendo su actividad.

Los inhibidores pueden actuar, bien bloqueando el funcionamiento de la coenzima, bien por interacción con la ap<sub>o</sub> enzima, o por tipos de interacción mixta.

No es de sorprender que sustratos de Dopa-D inhiban reversiblemente la descarboxilación de otros sustratos; por ejemplo, 5-HTP inhibe la descarboxilación de Dopa (9).

Ciertos autores encuentran una inhibición por exceso de (P-5'-P), otros observan una inhibición por exceso de sustrato, para cuya explicación recurren a la formación de un derivado de tetrahidroisoquinoleína entre el sustrato y el (P-5'-P), tal como muestra el esquema siguiente:



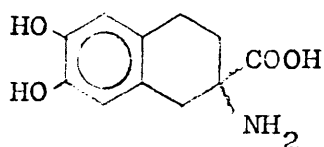
Recientemente Corgier y col. (10) han encontrado que la DAA es inhibida por un exceso de (P-5'-P) para bajas concentraciones de sustrato y por un exceso de sustrato, para pequeñas concentraciones de (P-5'-P), siendo la formación de la tetrahidroisoquinoleína insuficiente para explicar dicha

inhibición, en la cual influyen otros factores, tales como la formación de melaninas o de compuestos intermedios y la interacción de (P-5'-P) con grupos lisilos o sulfidrilos.

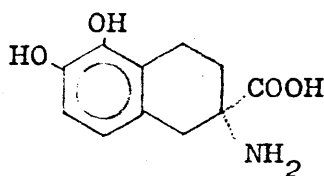
La DAA tiene fundamentalmente tres puntos para la interacción con sustratos e inhibidores: un área con considerable afinidad para núcleos aromáticos, especialmente grupos fenilos hidroxilados; un área con afinidad para grupos básicos; y un área con afinidad para grupos ácidos. Así, compuestos aromáticos con uno o más de estos tipos de grupos son inhibidores potenciales de descarboxilasas.

Entre la gran variedad de inhibidores de Dopa-D encontramos: quinonas y polifenoles, flavonas, antocianinas, derivados de pirúvico, ácidos fenil-acéticos, cinamoilderivados y otros varios. Los que merecen preferentemente nuestra atención, son los análogos estructurales de Dopa y en especial los derivados  $\alpha$ -metilados, como  $\alpha$ -metil-hidracinodopa (carbidopa), de interés en el tratamiento del parkinsonismo, y su análogo el  $\alpha$ -metildopa (11), que es lentamente descarboxilado "in vivo" dando lugar a un falso neurotransmisor con efectos hipotensores (12).

Recientemente (13), se han encontrado unos análogos rígidos de Dopa con actividad inhibidora similar a la del  $\alpha$ -metildopa, siendo crítica la disposición de las funciones OH en el núcleo aromático y no la rigidez de la molécula "per se". Así, por ejemplo, el compuesto (II) no es inhibidor, - mientras sí lo es el (III), hecho que sugiere una mayor simi-



(II)



(III)

litud estereoquímica entre receptores dopaminérgicos y el lugar de actividad catalítica de la DAA.

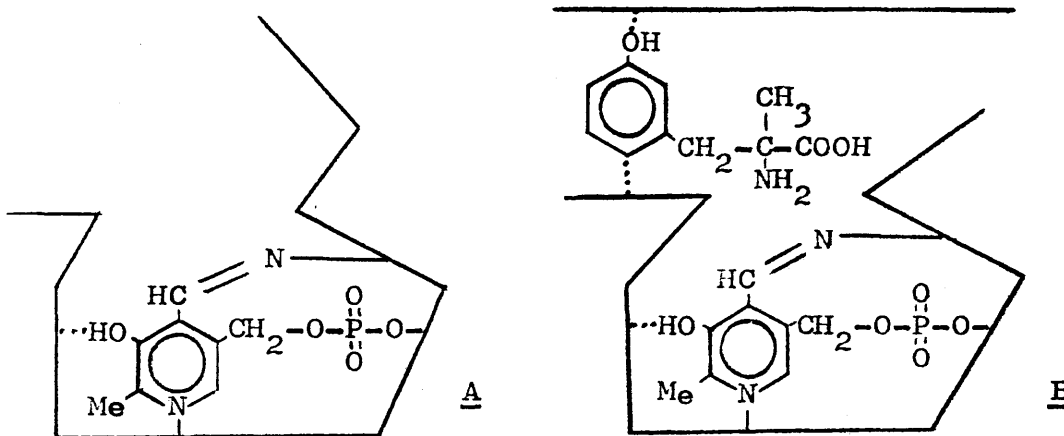
Atkinson y col. (14) prepararon una serie de derivados de saligenina análogos de Dopa y  $\alpha$ -metildopa como drogas - para el tratamiento del parkinsonismo y de la hipertensión respectivamente, sin embargo, dichos productos no mostraron ser inhibidores ni sustratos de la DAA.

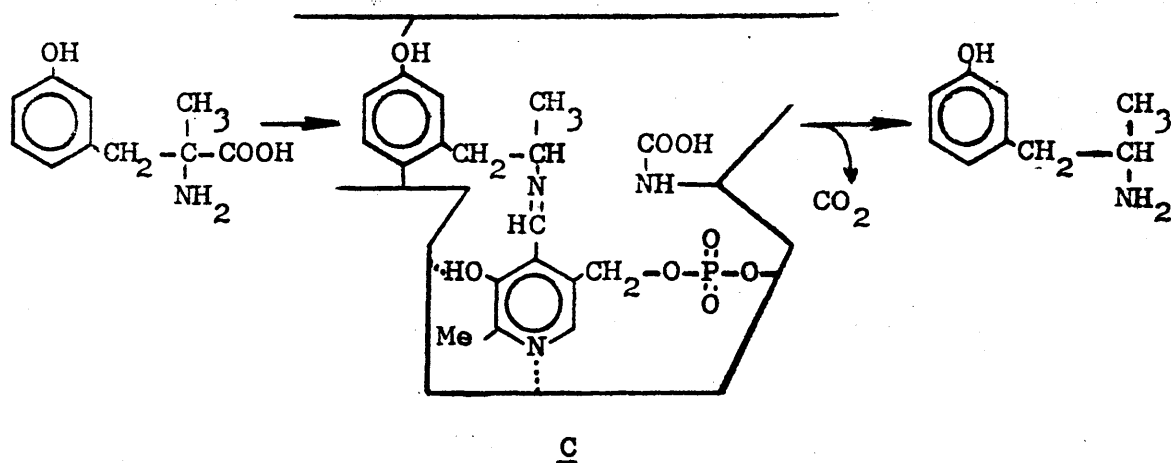
Winn y col. (15) prepararon una serie de homólogos de Dopa,  $\alpha$ -metildopa y dopamina, y los ensayaron como posibles agentes antihipertensores, y dada su analogía con Dopa y  $\alpha$ -metildopa, ensayaron su actividad frente a la DAA y dopamina- $\beta$ -hidroxilasa. Solamente resultó activa la homodopamina, frente a esta última enzima, mientras el  $\alpha$ -metilhomodopa no se descarboxilaba "in vivo".

Es bien conocido que el  $\alpha$ -metildopa es descarboxilado "in vivo", produciendo  $\alpha$ -metil-dopamina, transformación de mostrada por varios autores, habiendo sido determinada también la configuración absoluta de la  $\alpha$ -metildopamina producida, a fin de establecer la especificidad de la enzima por el sustrato (16).

Asímismo, muchos  $\alpha$ -metil-aminoácidos son descarboxilados por la DAA, originando las correspondientes  $\alpha$ -metilaminas.

Un posible mecanismo para la descarboxilación de la  $\alpha$ -metil-m-tirosina es el siguiente (17):





La enzima A está representada como una proteína (apoenzima) a la cual esta unida firmemente una molécula de (P-5'-P) por enlaces iónicos y de hidrógeno, y un doble enlace azometínico formado por la unión del grupo aldehído prostético y un grupo amino de la proteína (18).

En B esta representada una molécula del sustrato o inhibidor ( $\alpha$ -metil-m-tirosina en este esquema). La porción aromática de esta molécula altera la configuración de la proteína, de tal manera que el grupo amino del compuesto en trante se sitúe en las proximidades del grupo prostético.

El último paso, representado por C, lo constituye la -formación de la base de Schiff con el grupo amino del aminoácido entrante, y la transferencia del grupo carboxilo al grupo amino de la proteína.

Finalmente, si la descarboxilación ha tenido lugar, otra molécula de sustrato entra, desplazando la amina y liberando  $\text{CO}_2$ .

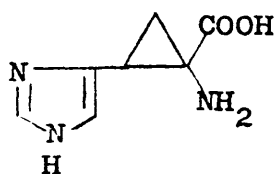
Algunos tipos de inhibidores se enlazan fuertemente con el grupo aldehídico del (P-5'-P), resistiéndose al desplazamiento, por lo que la acción enzimática desaparece.

El carácter competitivo o no competitivo de la inhibición depende de la secuencia de adición a la enzima (19) - del sustrato e inhibidor.

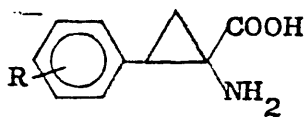
Lovenberg y col. (8), proponen como mecanismo de inhibición por la  $\alpha$ -metildopa, la formación de un complejo ternario entre inhibidor, enzima y (P-5'-P) enlazado a la enzima.

Por lo que se refiere a la sustitución del C en  $\alpha$  en los  $\alpha$ -metilaminoácidos por un anillo de ciclopropano, hemos encontrado escasos antecedentes en la bibliografía.

Pages y Burger (20) (21), describen una síntesis del ácido 1-amino-2-(4-imidazolil)-ciclopropanocarboxílico (IV) y miden su capacidad de inhibición sobre la histidina-descarboxilasa de hígado de fetos de ratas, comprobando que es del mismo orden que la de la  $\alpha$ -metilhistidina.



(IV)

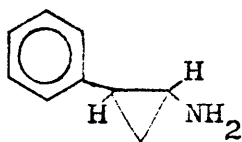


(I)

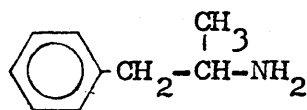
En una patente belga (22), aparece la síntesis de compuestos que corresponden a la fórmula general (I) y sus aplicaciones como agentes hipotensores, manifestando ser capaces de liberar y disminuir el nivel de catecolaminas en tejidos.

Una posibilidad muy interesante que potencialmente presentan estos ciclopropilaminoácidos, es que, al igual que los  $\alpha$ -metilaminoácidos, puede ocurrir que sean lentamente descarboxilados "in vivo" y den lugar a ciclopropilaminas "in situ", las cuales actúan, "in vitro" e "in vivo", como potentes inhibidores de MAO (23) (24).

Concretamente, la trans-2-fenilciclopropilamina (V) es un potente inhibidor de MAO "in vivo" e "in vitro", utilizado en tratamientos clínicos. Su alto grado de actividad



(V)



(VI)

se debe posiblemente a su semejanza con la estructura de la anfetamina (VI) (25).

Algunos análogos, homólogos, isómeros y derivados de 2-fenilciclopropilamina, han sido estudiados como inhibidores de la actividad de MAO. Así, por ejemplo, se ha encontrado que la sustitución en el núcleo bencénico tiene poco efecto en cuanto a la potencia de la inhibición, siendo los derivados p- sustituidos más efectivos que los correspondientes o y m.

Los compuestos de fórmula general (I) por los que nos interesamos, en vista de todo lo expuesto anteriormente, podrían actuar, ya como inhibidores de la DAA, ya como sustratos de la misma.

Si estos ciclopropilaminoácidos sirven de sustratos de la DAA, es previsible para los mismos "in vivo" una acción inhibidora de la MAO, y en consecuencia efectos psicoestimulantes y antidepresivos. Esto, por supuesto, si como ocurre con la fenilalanina, la tirosina y el Dopa, son capaces de penetrar en el cerebro. Asimismo, si meramente son descarboxilados en los tejidos periféricos son posibles efectos potenciadores o antagonistas de las catecolaminas, influyendo por lo tanto, y de modo ahora no previsible, sobre sus efectos cardiovasculares y reacciones inflamatorias.

Por otra parte, si tales ciclopropilaminoácidos no sirvieran de sustratos de la DAA, la relación estructural con los sustratos de la enzima los hace previsible inhibidores, por bloqueo del (P-5'-P) que sirve de coenzima a esta y a -

otras descarboxilasas.

En consecuencia, cabría esperar "in vivo" un bloqueo central o periférico (o ambos) en la biosíntesis de las mencionadas aminas biógenas.

En otro orden de actividades, y aunque no es una cuestión que nos ocupa actualmente, estos productos, como análogos de aminoácidos naturales que son, podrían tener interés, bien como antagonistas de aquéllos, produciendo efectos tóxicos específicamente opuestos a los del aminoácido proteínico normal, o bien interfiriendo en la biosíntesis de polipéptidos y por lo tanto de proteínas, bien por incorporarse a las mismas reemplazando al correspondiente aminoácido natural, bien inhibiendo su formación.

Podemos resumir las razones que nos han llevado a preparar los compuestos de fórmula general (I), de la siguiente forma:

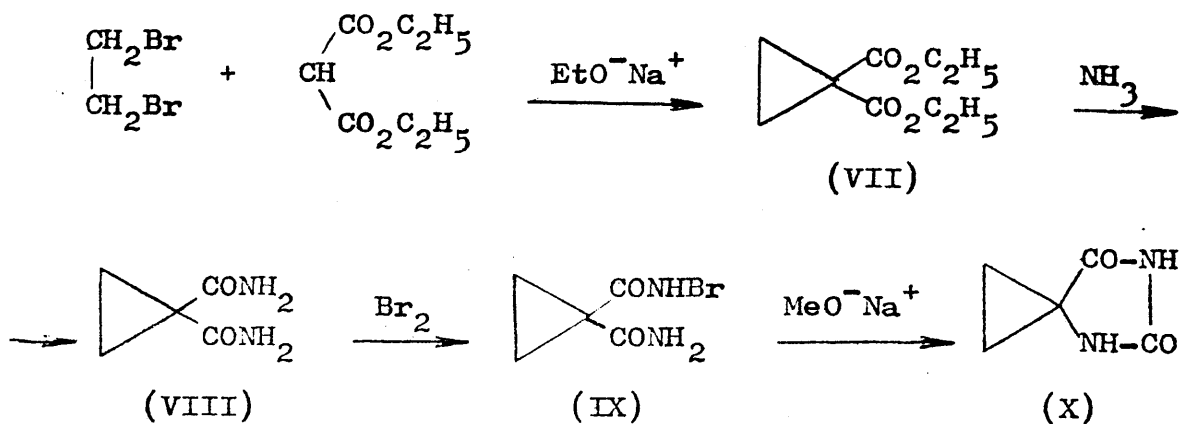
- a) Porque son previsibles inhibidores de descarboxilasas de aminoácidos naturales.
- b) Porque, en el caso que fueran descarboxilados "in vivo", darían lugar a ciclopropilaminas, potentes inhibidores de MAO "in vitro" e "in vivo".
- c) Por su posible interferencia en la biosíntesis de proteínas.
- d) Porque son potencialmente susceptibles de antagonizar a los aminoácidos naturales en las reacciones en las que éstos intervienen.

ANTECEDENTES SOBRE LA SINTESIS DE ACIDOS 1-AMINO-CICLOPROPA  
NOCARBOXILICOS.

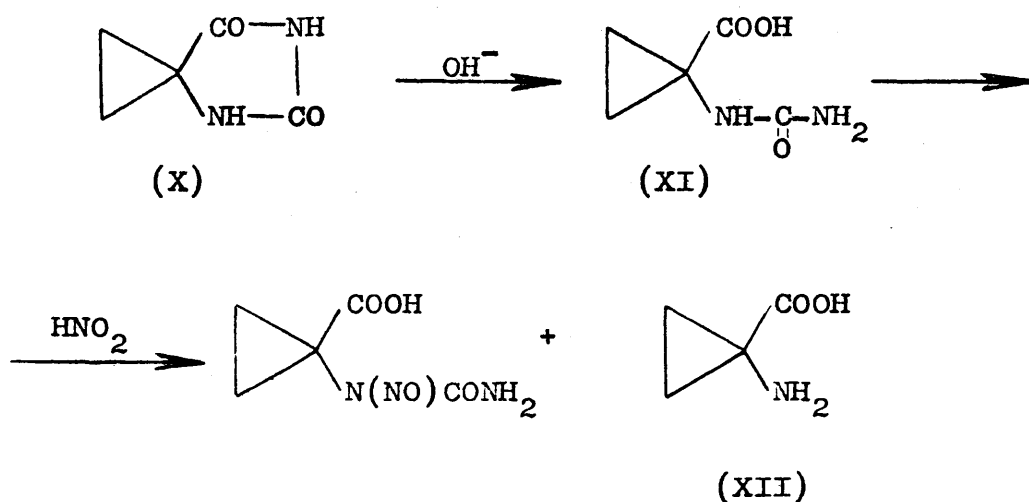
En una revisión bibliográfica llevada a cabo acerca de la síntesis de ácidos 1-amino-ciclopropanocarboxílicos, el más sencillo de ellos aparece preparado por vez primera en una publicación de C. Ingold y col. (26), sobre la influencia - de sustituyentes en la formación de compuestos heterocíclicos. Esta es la primera vez que aparece descrito el ácido 1-amino-ciclopropanocarboxílico, el más sencillo de la serie, no conociéndose todavía como aminoácido natural.

Unos años más tarde, L. F. Burroughs (27), lo aisló a partir de jugo de peras y manzanas por cromatografía en columna con resinas cambiadoras de iones, y M. L. Vahatulo y A. I. Virtanen (28) lo aislaron de bayas de arándano rojo, confirmando ambos que coincidía con el aminoácido sintetizado por Ingold.

Ingold realiza la síntesis a partir de 1,1-ciclopropandicarboxilato de etilo. Este producto ya había sido sintetizado por Dox y Yoder (29) a partir de dibromo etileno y malonato de etilo en presencia de etilato sódico, basándose en la síntesis ya realizada por Perkin (30), y mejorando el rendimiento de un 27% a un 40%.



El ester etílico del ácido 1,1-ciclopropanodicarboxílico (VII) se trata con  $\text{NH}_3$  líquido formando la diamida (VIII), que con  $\text{Br}_2$  y en presencia de álcalis, conduce a la N-bromodiamida (IX), la cual cicla, en presencia de metilato sódico, a la hidantoina (X).



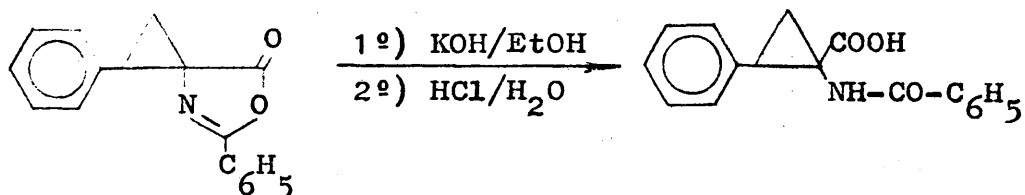
Por último, tratando la hidantoina con álcalis, proporciona el ácido hidantóico (XI). Cuando éste se trata con ácido nitroso, da lugar a dos compuestos, un nitrosoderivado y el ciclopropilaminoácido (XII).

Posteriormente, L.F. Burrougha (27) lo obtiene (XII), -tratando la hidantoina (X) con  $\text{NaOH}$  1N a reflujo durante 21 h. Y más tarde, T.A. Connors y W.C.J. Ross (31) hidrolizaron - la hidantoina con  $\text{Ba(OH)}_2$  a presión y a la temperatura de -  $115^\circ\text{C}$ .

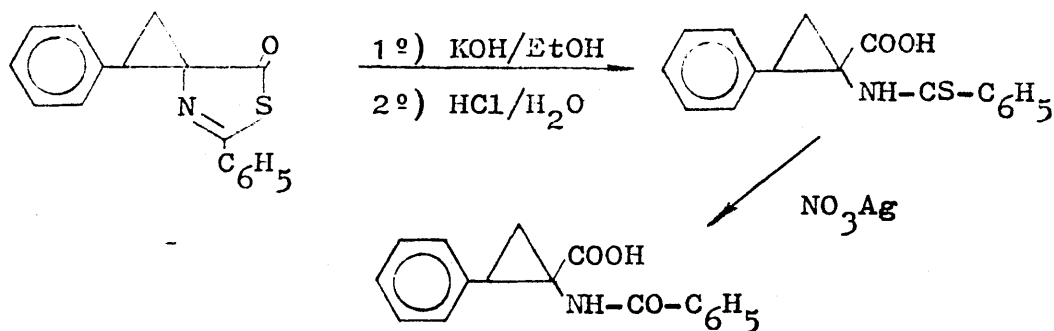
Otro camino posible para la síntesis de ácidos 1-amino-ciclopropanocarboxílicos, es el que aparece a partir de los estudios hechos por W.I. Awad y col. (32) y Mustafá y col. , (33) sobre la adición de diazometano a dobles enlaces exocíclicos a heterociclos, sobre todo del tipo oxazolonas, ob-

teniendo, entre otros, los correspondientes ciclopropilderivados.

Así, Mustafá y col. (33) llevaron a cabo la hidrólisis de 1,5-difenil-6-oxa-4-azaspiro-(4,2)hept-4-en-7-ona a ácido 1-benzamido-2-fenilciclopropanocarboxílico según muestra el esquema siguiente:



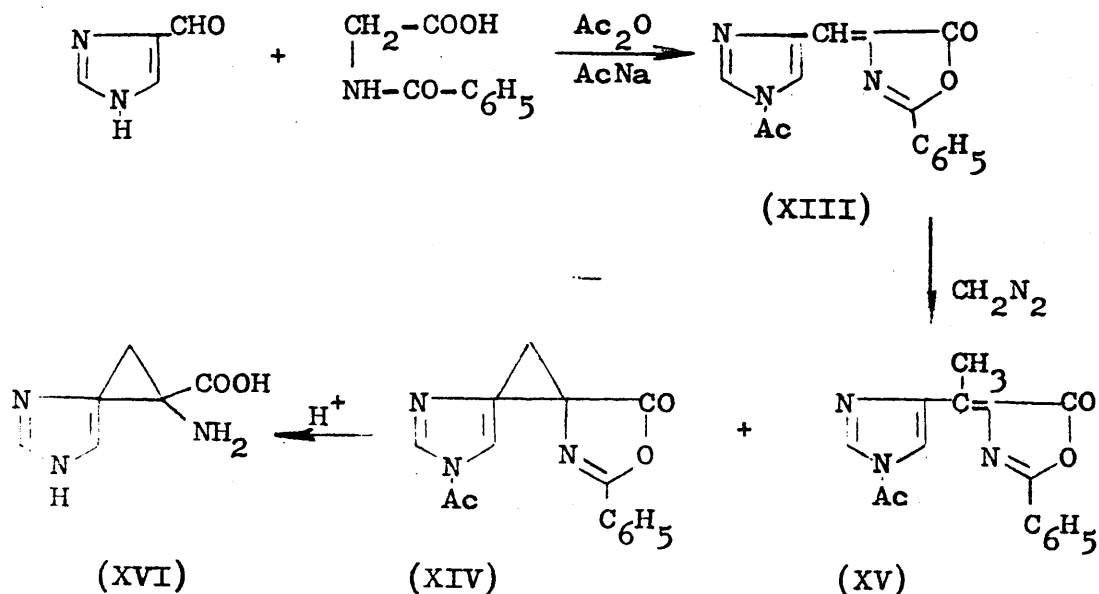
y de la 1,5-difenil-6-tio-4-azaspiro-(4,2)hept-4-en-7-ona al mismo ácido por hidrólisis y posterior desulfuración según el esquema siguiente:



En 1949, ya existían antecedentes sobre la adición de diazometano a 2-fenil-4-bencilidén oxazolonas (34), obteniéndose un anillo de ciclopropano al adicionarse metileno al doble enlace exocíclico. Una vez formada la espirooxazolona, puede pensarse en abrir su anillo para obtener los ciclopropilaminoácidos correspondientes. Las 2-fenil-oxazolonas, que se obtienen, como veremos más adelante, por condensación de un aldehído y ácido hipúrico en presencia de Ac<sub>2</sub>O y AcNa -

(síntesis de Erlenmeyer), se hidrolizan con facilidad en presencia de ácidos y álcalis. La adición de diazometano a estas oxazolonas puede dar lugar a la formación de un metil-derivado juntamente con el ciclopropil-derivado.

Este último esquema de síntesis es el que han utilizado R. A. Pages y A. Burger (20) para la preparación del ácido 1-amino-2-(4-imidazolil)-ciclopropanocarboxílico (XVI).

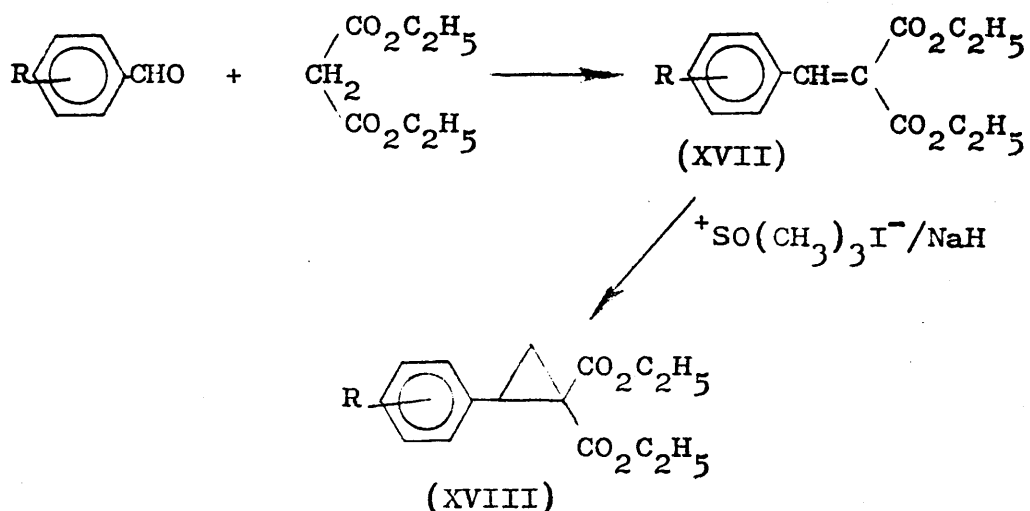


En este trabajo, al llevar a cabo la adición de diazometano a la oxazolona (XIII), no solo se obtiene el ciclopropil-derivado (XIV), sino también el metil-derivado (XV) resultante de la inserción de metileno al enlace C-H, haciendo que el rendimiento de la reacción con respecto a (XIV) sea más bajo. Los demás pasos de esta síntesis dan, en general, buenos rendimientos.

Posteriormente (21) estos mismos autores aplicaron un procedimiento similar para la preparación de derivados de tirosina.

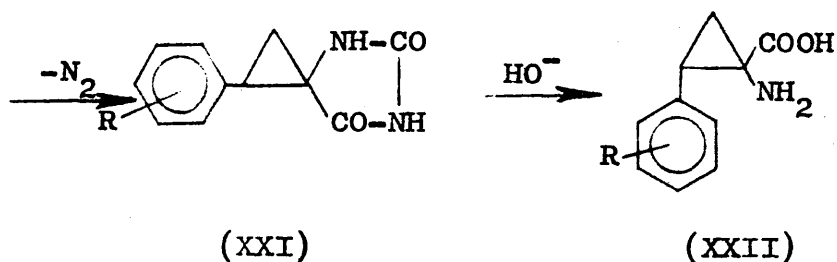
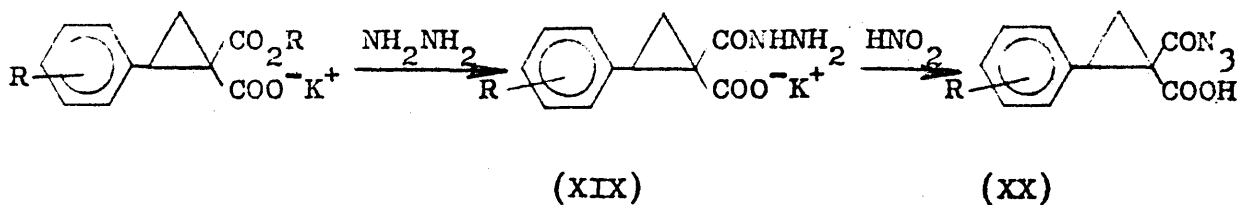
En 1964, aparece la publicación de una patente belga (22), sobre una nueva síntesis de ácidos 2-aryl-1-amino-ciclopropanocarboxílicos, en la que se consigue preparar los

dos isómeros cis y trans de estos ácidos. El primer paso en esta síntesis, es la condensación de aldehídos aromáticos - con malonato de etilo, en presencia de piperidina y ácido - benzoico, obteniéndose así el benzalmalonato de etilo (XVII), después de lo cual se crea el anillo de ciclopropano en la molécula, mediante yoduro de trimetilsulfoxonio y una base fuerte como es el hidruro de sodio. Se obtiene así, el fenil ciclopropano dicarboxilato de etilo (XVIII). Las reacciones se pueden esquematizar como sigue:

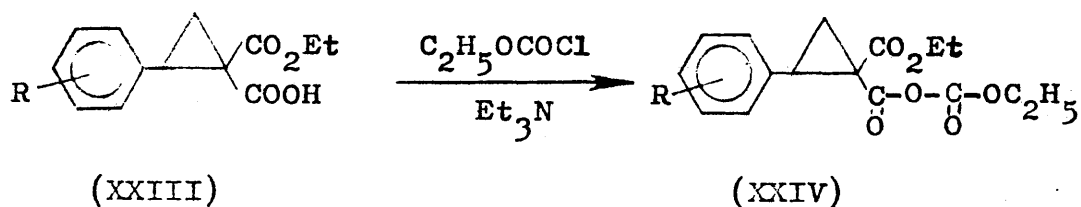


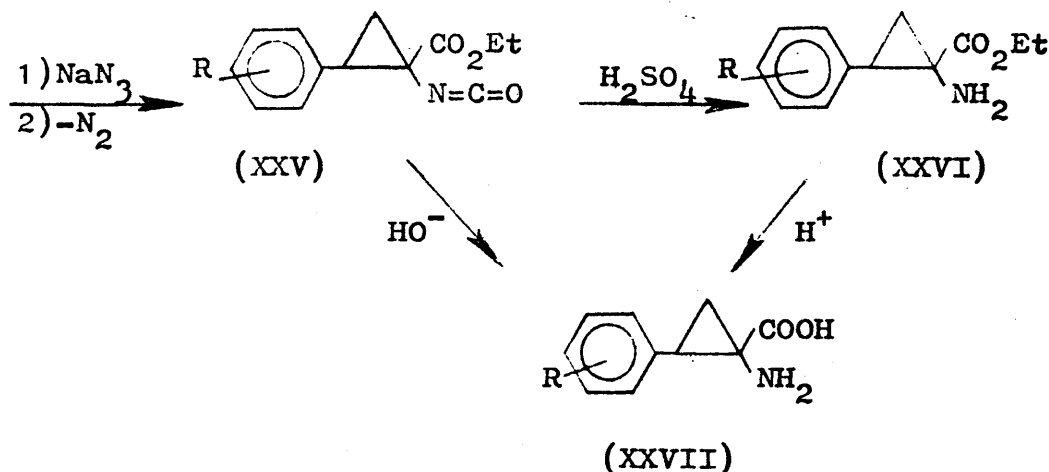
A partir de este diéster (XVIII), por distintos tratamientos, se obtienen los isómeros cis o trans de los ácidos - 1-amino-2-fenil-ciclopropanocarboxílicos.

Cuando se quiere obtener el isómero trans, el monoéster, en forma de sal potásica, se trata con hidracina, formándose la hidracida (XIX). Esta, por acción de ácido nitroso se transforma en la azida (XX), que por calefacción y pérdida de N<sub>2</sub>, da la hidantoína (XXI), que al hidrolizarse en medio alcalino, se transforma en el ácido trans-1-amino-2-aryl-ciclopropanocarboxílico (XXII).



Para obtener el isómero cis, el monoéster del ácido (XXIII) se transforma en el isocianato (XXV), el cual en presencia de ácidos da el éster (XXVI), que por posterior saponificación conduce al ácido cis-1-amino-2-aryl-ciclopropanocarboxílico (XXVII). O bien, el isocianato puede ser tratado directamente con álcalis y dar el ácido cis. A continuación esquematizaremos las reacciones: -

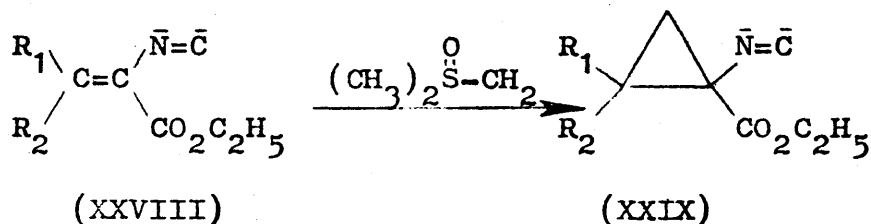




Esta síntesis ha sido aplicada, aparentemente, a compuestos en que R- varía muy ampliamente, pero solo se dan datos y constantes en la mencionada patente, para aquellos casos - en que R= H, 3-OH.

Otro posible camino de síntesis de ácidos 1-amino-ciclopropanocarboxílicos, es el que parte del ester etílico del ácido 1-isocianociclopropanocarboxílico (XXIX) (35).

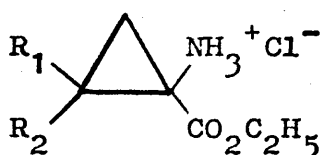
En primer lugar, se utiliza una reacción de Corey con isocianoacrilato de etilo (XXVIII).



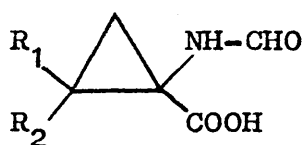
Esta reacción va muy bien, dando una mezcla de estereoisómeros. El estudio de la hidrólisis de estos productos conduce a los siguientes resultados:

En medio ácido etanólico se obtiene (XXX); en una hidrólisis básica fuerte se origina (XXXI); en una hidrólisis bá-

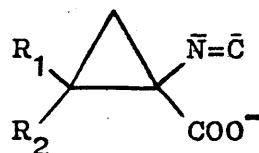
sica débil se obtiene (XXXII). Ninguna de ellas conduce al aminoácido.



(XXX)

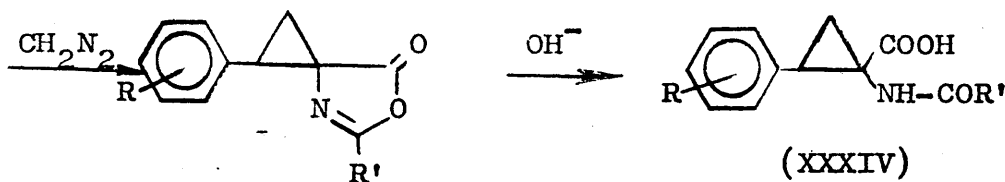
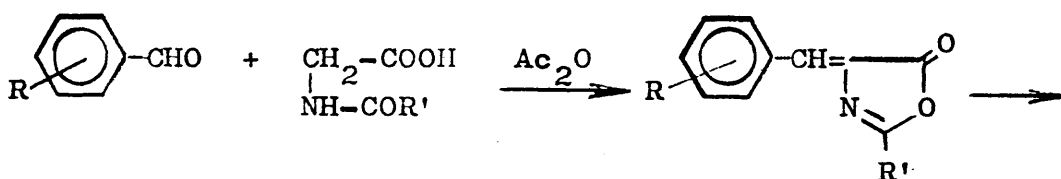


(XXXI)



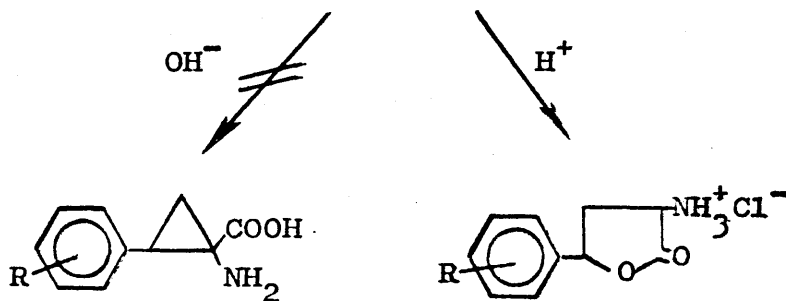
(XXXII)

Nuestro propio grupo de trabajo intentó la síntesis de los mencionados aminoácidos (36) (37), basándose en algunos precedentes de la bibliografía, vía oxazolonas y de acuerdo con el esquema siguiente:



(XXXIII)

(XXXIV)



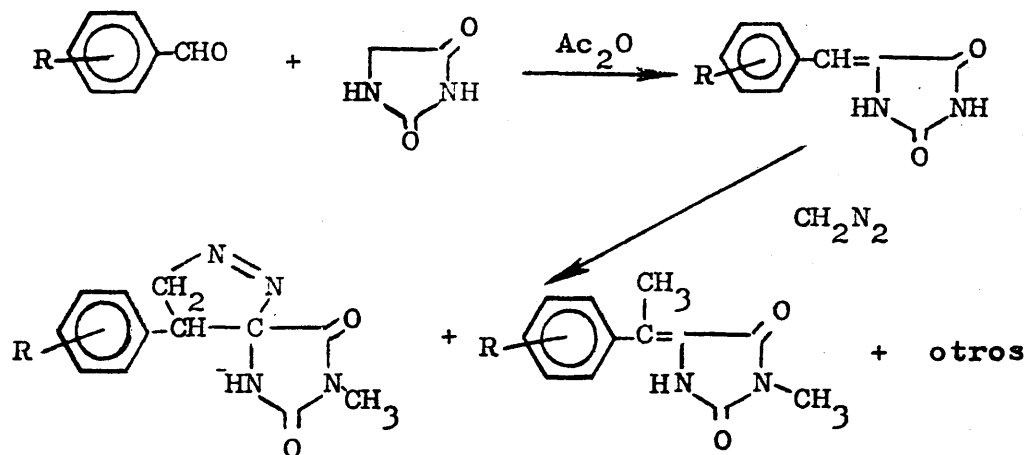
(XXXV)

R = variable

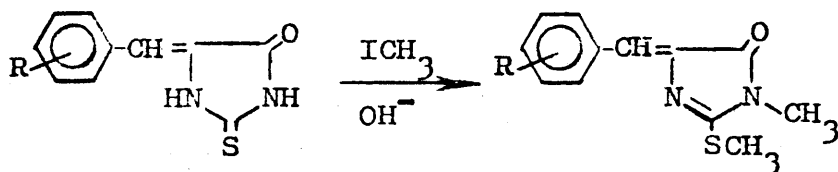
R' = C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>; CH<sub>3</sub>-; NO<sub>2</sub>-

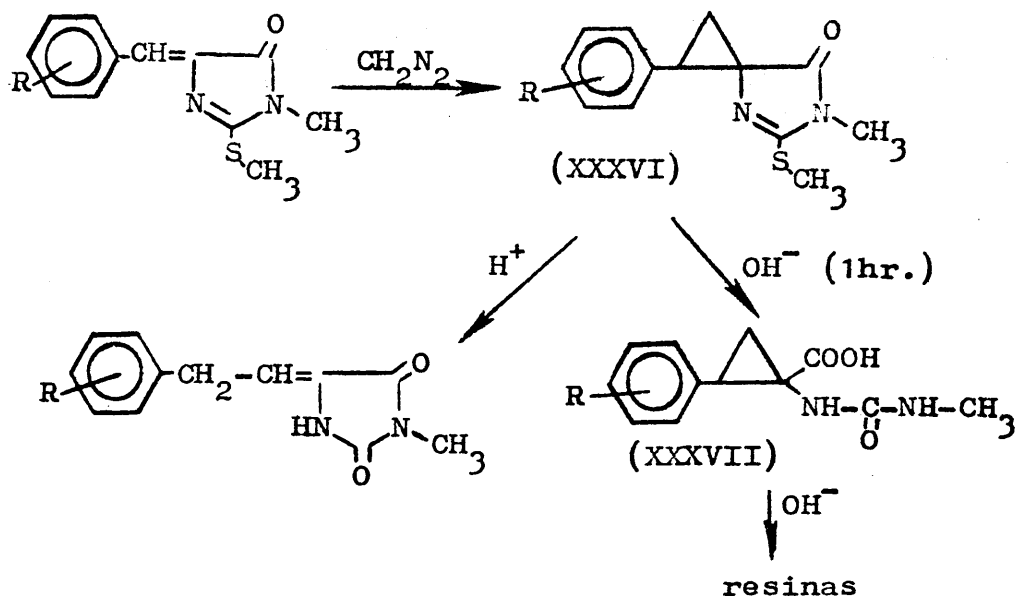
Sin embargo, la síntesis falló debido a las dificultades encontradas para hidrolizar las espirooxazolonas (XXXIII) o los ácidos 1-benzoilamino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos - (XXXIV). Estos compuestos son extraordinariamente resistentes a la hidrólisis básica, y su anillo de ciclopropano se escinde en las hidrólisis ácidas, originando aminolactonas (XXXV), como ilustra el esquema anterior.

Posteriormente, se intentó la preparación a través de hidantoinas, que también fracasó, debido a la formación de una mezcla de productos, cuyo análisis por espectroscopía de RMN, muestra la presencia, entre otros productos, de pirazolinas y metilderivados, en lugar de las espirohiantoinas deseadas, como muestra el esquema siguiente:



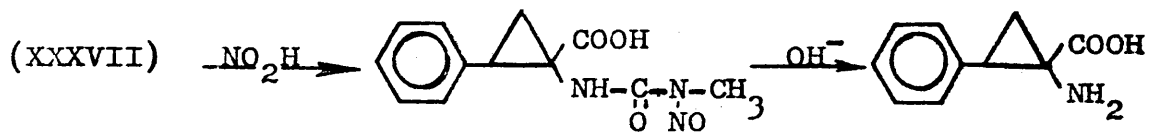
Por otra parte, el empleo de metiltiohidantoinas (38) condujo a las deseadas espiroimidazolonas (XXXVI) pero una vez más fracasó la hidrólisis de las mismas a los ciclopropilaminoácidos, según se indica en el esquema siguiente:





De nuevo, la hidrólisis ácida producía una ruptura del anillo de ciclopropano, mientras que la hidrólisis alcalina conducía solamente a resinas intratables.

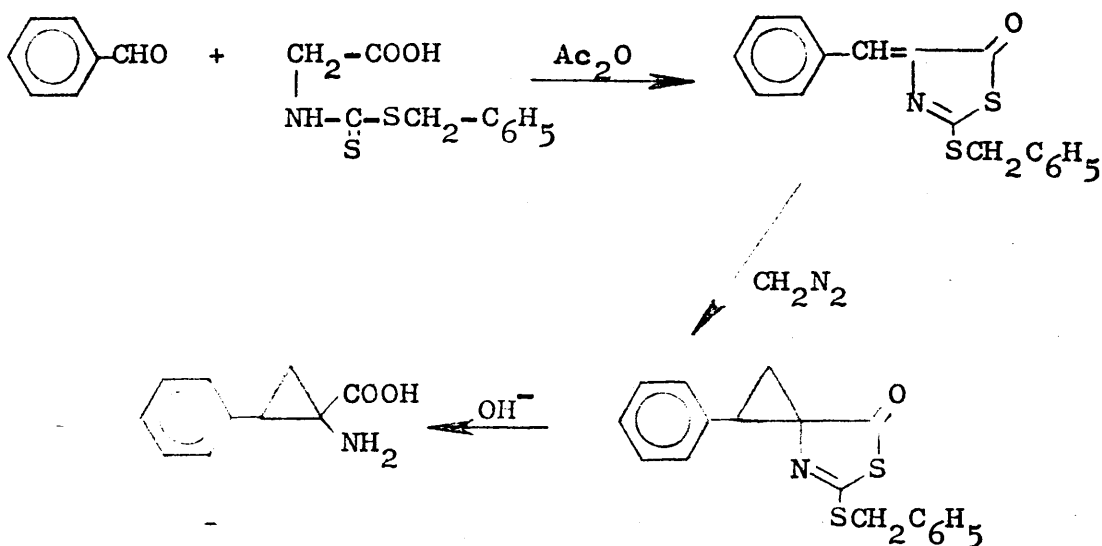
Recientemente, y también por nuestro grupo de trabajo (39), el compuesto (XXXVII) ha sido transformado en el ácido 1-amino-2-fenil-ciclopropanocarboxílico, a través de un tipo de degradación que parte del compuesto (XXXVII), y que se formula a continuación:



No obstante, el rendimiento conseguido hasta el momento en esta transformación es muy bajo.

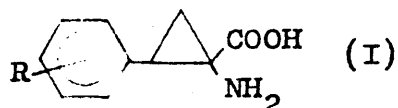
Por último, mediante un procedimiento muy prometedor, introducido por nuestro grupo de trabajo (40), se ha logrado

preparar el ácido 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílico. Según dicho procedimiento, se condensa benzaldehído con -bencilditiotiocarbonilglicina en presencia de anhídrido acético y carbonato potásico, para dar con rendimiento aceptable 2-benciltió-4-bencilidén-5-(4H)-tiazolona, la cual reacciona con diazometano bajo ciertas condiciones, dando entre otros productos el correspondiente ciclopropilderivado, el cual hidroliza con álcalis bajo condiciones suaves para dar el ácido 1-amino-2-fenil-ciclopropanocarboxílico, según se expone en el esquema siguiente:



ELECCION DE SUSTITUYENTES Y ESQUEMA GENERAL DE SINTESIS

El objetivo fundamental de este trabajo es el de obtener compuestos que respondan a la fórmula general (I):



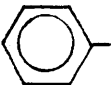
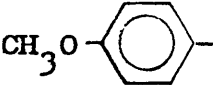
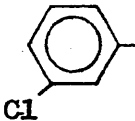
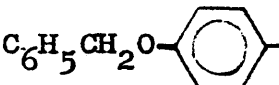
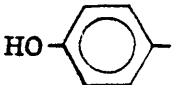
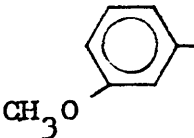
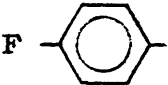
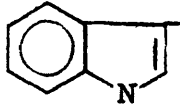
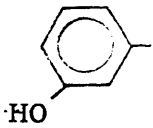
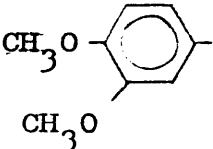
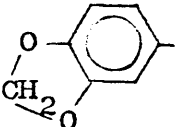

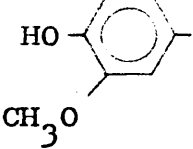
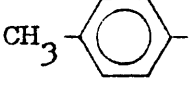
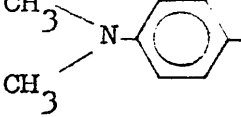

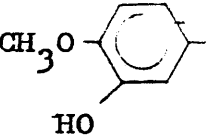
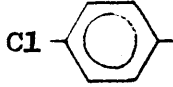
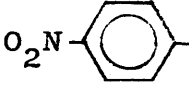
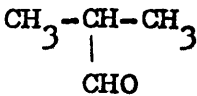
y su ensayo como posibles sustratos o inhibidores de la descarboxilasa de aminoácidos aromáticos.

En la parte I de esta memoria, se han visto los requerimientos estructurales de un inhibidor de Dopa-descarboxilasa, como es, por ejemplo, la existencia de un grupo fenólico en posición 3 en el anillo aromático, favoreciéndose además la afinidad por la existencia de otro grupo fenólico en posición 4.

No obstante, la química de estos compuestos es muy poco conocida, y estimamos que sería interesante tener una idea - lo más amplia posible del efecto que las distintas sustituciones producirían en las propiedades de la molécula. Teniendo en cuenta, pues, ambos factores, hemos elegido, de una parte, una variedad de sustituyentes con diversa capacidad electro-donadora o electro-aceptora como  $(\text{CH}_3)_2\text{N}$ ,  $\text{CH}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{O}$ ,  $\text{Cl}$ ,  $\text{NO}_2$ , ..., y de otra, sustituyentes hidroxilados en varias posiciones, con miras a obtener estructuras que muestren mayor o menor afinidad por el centro activo de la enzima. Por último, se eligió algún radical alifático y heterocíclico, con objeto de explorar el alcance del método y su posible aplicación a la futura preparación de análogos ciclopropánicos de aminoácidos alifáticos y heterocíclicos.

De acuerdo con lo expuesto, se seleccionó una serie de - 20 aldehídos y cetonas, con las siguientes estructuras:

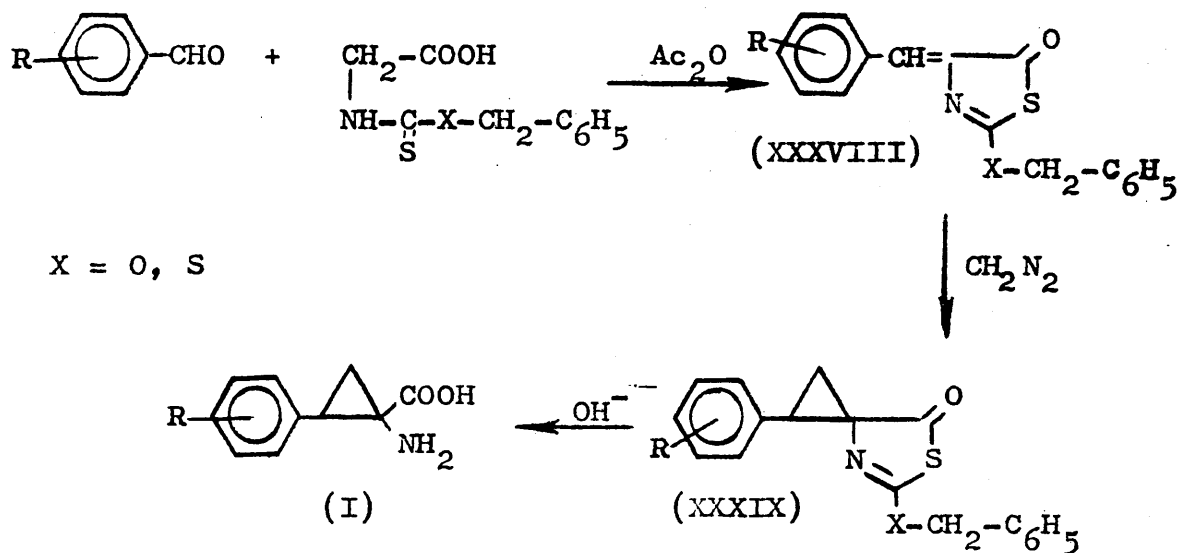
TABLA I

Radicales			
			
			
			
			
			

Estos 20 compuestos han sido condensados con N-bencilditiocarbonilglicina o con N-benciloxitiocarbonilglicina, para dar 4-arilidén-5-(4H)-tiazolonas (XXXVIII), que por subsecuente adición de diazometano dieron lugar a las espirotiazolonas correspondientes (XXXIX), las cuales por hidrólisis básica conducirán a los compuestos de fórmula general - (I) por los que nos interesamos.

El esquema I ilustra las reacciones que se han llevado a cabo y que en las partes II y III de esta Tesis, se estudian en sus aspectos teóricos y experimentales.

Esquema I



PARTE II

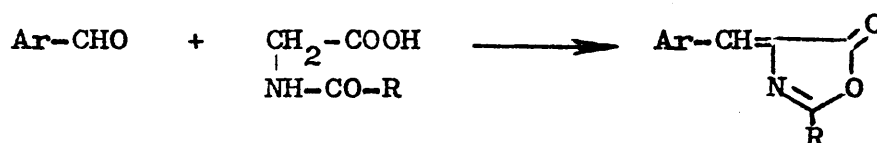
SINTESIS DE ACIDOS 1-AMINO-2-ARIL-CICLOPROPANOCARBOXILICOS

TEORIA Y DISCUSION DE METODOS Y RESULTADOS

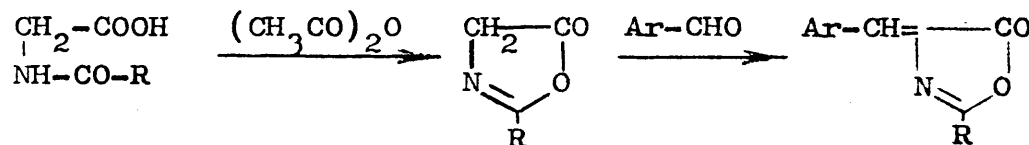
I. PREPARACION Y PROPIEDADES DE LAS 4-ARILIDEN-5(4H)-TIAZO-  
LONAS

1.- Síntesis

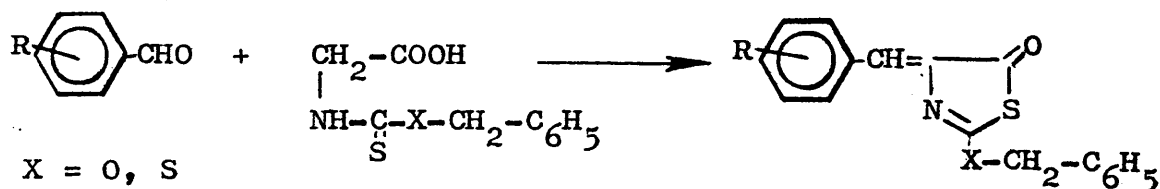
El método elegido para la preparación de las 4-arilidén-5(4H)-tiazolonas (XXXVIII, esq. I, pg. 27) está basado en el de Erlenmeyer-Plösch (41) (42) para la síntesis de oxazolonas. Según este método, las oxazolonas se obtienen condensando un aldehído aromático con un N-acilderivado de glicina, en presencia de anhídrido acético, tal como sigue:



Estudios posteriores de estas reacciones hacen suponer que primeramente se forma la oxazolona, la cual condensa con el aldehído según el esquema siguiente:



En nuestro caso, el esquema general de síntesis es totalmente paralelo:



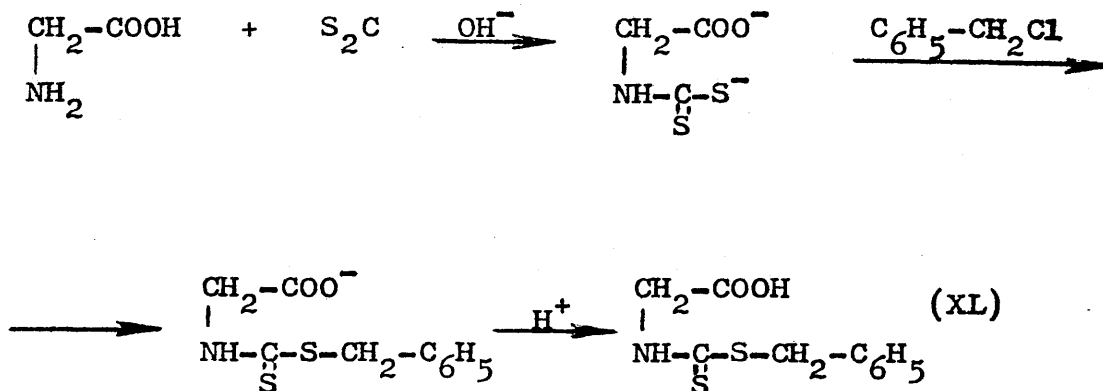
X = O, S

R. = variable

La condensación va bien en anhídrido acético-acetato sódico o en anhídrido acético-carbonato potásico, según los casos.

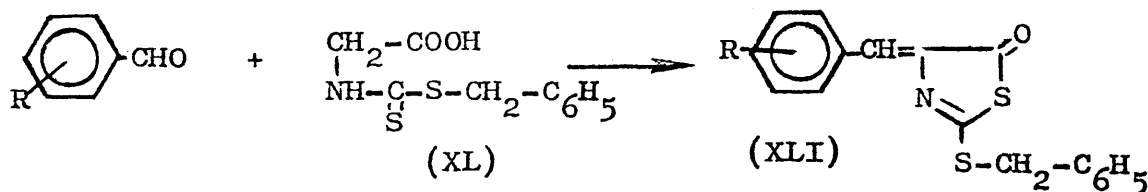
a) 2-benciltió-4-arilidén-5(4H)-tiazolonas

Fueron preparadas por el método de Cook y Harris (43), - usando como producto de partida N-bencilditioarbonilglicina (XL), preparada como sigue:



esta última condensa con aldehídos aromáticos según el esquema siguiente:

Esquema II



Los aldehídos aromáticos empleados fueron los siguientes: benzaldehído; anisaldehído; 4-nitrobenzaldehído; 4-tolualdehído; 4-clorobenzaldehído; 3-clorobenzaldehído; 4-fluorobenzaldehído; piperonal; 4-hidroxibenzaldehído; 3-hidroxibenzaldehído; vainillina; isovainillina; protocatecualdehído; 4-metoxibenzaldehído; 3-metoxibenzaldehído; 4-benciloxibenzaldehído; 4-dimetilaminobenzaldehído e indolil-3-aldehído.

La condensación se realizó en anhídrido acético-carbonato potásico a temperatura ambiente en unos casos, y en anhídrido acético a ebullición en otros; así por ejemplo, en la condensación de un hidroxibenzaldehído con N-bencilditioarbonilglicina se obtuvo el correspondiente (XLI) derivado ace

tilado cuando se hizo en  $\text{Ac}_2\text{O}/\text{CO}_3\text{K}_2$ , pero resultó sin acetilar cuando se hizo en ausencia de  $\text{CO}_3\text{K}_2$ ; lo mismo ocurrió con el derivado indólico.

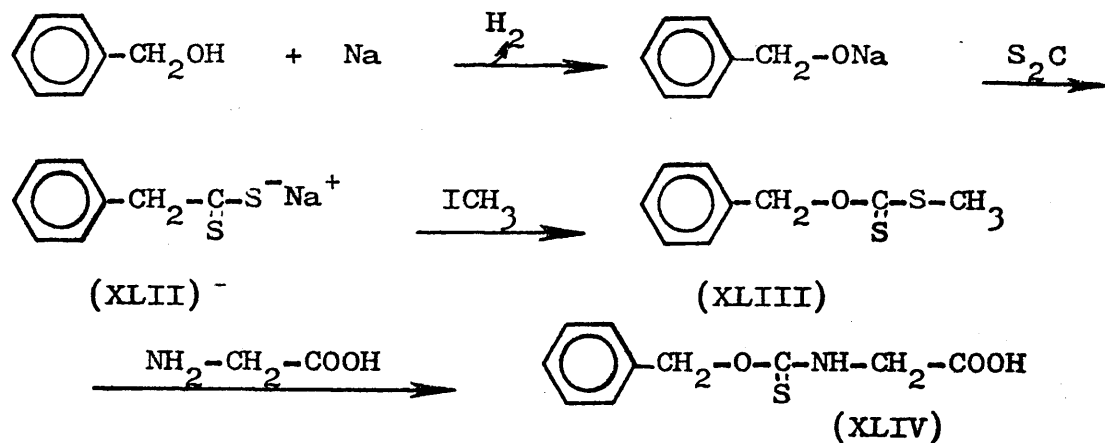
Usando este método se prepararon las tiazolonas (XLI) - descritas en la tabla I de la parte III, todas ellas se describen aquí por primera vez excepto la 2-benciltio-4-bencilidén-5(4H)-tiazolona descrita por Cook (XLI, R=H) (43).

Los rendimientos oscilan entre el 40 y el 75%, siendo más bajos en el caso del 4-F (20%) y del 4- $\text{OCH}_2\text{-C}_6\text{H}_5$  (30%).

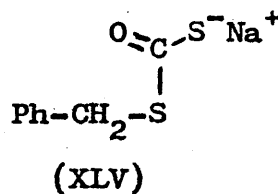
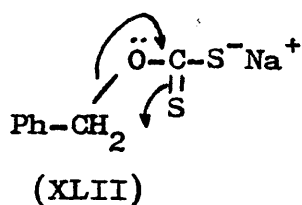
La caracterización de estos compuestos se ha llevado a cabo por técnicas de microanálisis y espectroscopía IR y RMN.

b) 2-benciloxi-4-arilidén-5(4H)-tiazolonas

Se prepararon de manera similar a las anteriores, usando N-benciloxitiocarbonilglicina (XLIV) como producto de partida, la cual se obtuvo como se esquematiza a continuación:

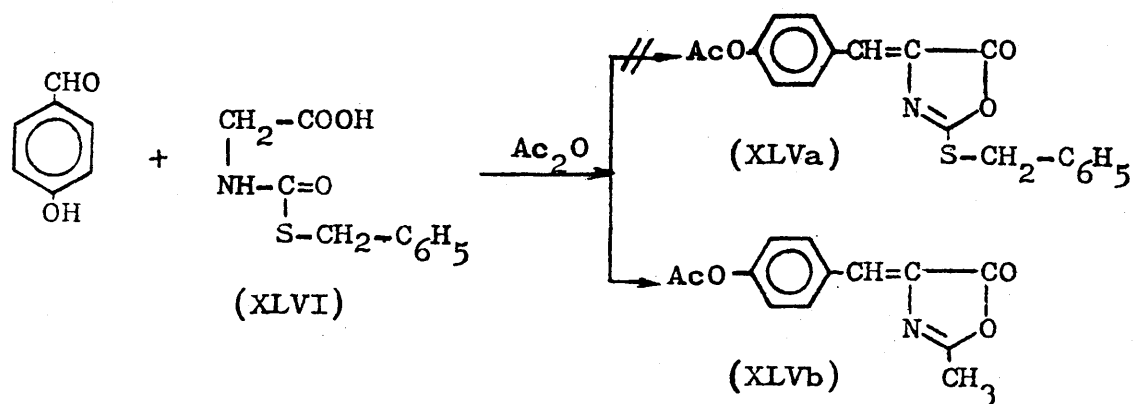


Este producto ha sido preparado por primera vez por nosotros, y en su síntesis se obtenía a veces un isómero del mismo, la N-(benciltio)-carbonilglicina (XLVI) descrita por Cook (43), y cuya formación puede deberse a un reagrupamiento sufrido por el O-bencilxantogenato de sodio (XLII) con el calor. Este reagrupamiento puede explicarse por un desplazamiento nucleófilo a través de un estado de transición de 4 miembros, para dar el compuesto (XLV).



De hecho, esta transposición puede producirse en el curso de la síntesis sobre el bencilxantogenato de sodio (XLII), sobre el bencilxantogenato de metilo (XLIII), o sobre la N-benciloxitiocarbonilglicina (XLIV), conduciendo en cualquiera de estos casos a N-(benciltío)carbonilglicina (XLV) como producto final. Reagrupamientos análogos de grupos tiocarbonilato (-C-O-S-) a carboniltioato (-C-S-) se encuentran descritos en la bibliografía (44), y algunos autores (45) describen los ditiocarbonatos como forma estable de los xantatos.

Los intentos de ciclación con anhídrido acético de la N-(benciltío)carbonilglicina (XLVI) no condujeron a la correspondiente oxazolona 2-benciltío-sustituída, sino a una oxazolona 2-metil-sustituída. Así, ocurrió que al hacer reaccionar el 4-hidroxibenzaldehído con la N-(benciltío)carbonilglicina en presencia de anhídrido acético, se obtuvo un compuesto cuyo análisis elemental y espectros IR y RMN concuerdan con la estructura (XLVb)





Usando este método se obtuvieron las tiazolonas (XLVIII) descritas en la tabla I de la parte III, todas ellas preparadas por primera vez por nosotros.

Los rendimientos oscilan entre el 40 y el 75% siendo muy bajo (15%) en el caso del derivado piridínico.

La caracterización de estos compuestos se ha llevado a cabo por técnicas de microanálisis, espectroscopía IR y RMN.

c) Intentos de obtención de las 4-alquilidén-5(4H)-tiazolonas

Las 4-alquilidén-5(4H)-tiazolonas se intentaron obtener utilizando los métodos descritos en los esquemas II (pg. 29) y III (pg. 32), empleando acetona e isobutiraldehído en los dos métodos, no obteniéndose en ningún caso las tiazolonas -deseadas, sino una mezcla muy compleja de productos que no -pudieron ser separados ni caracterizados.

2.- Espectros IR de las 4-arilidén-5(4H)-tiazolonas

Todos los espectros IR de las 4-arilidén-5(4H)-tiazolonas presentan una banda de gran intensidad alrededor de  $1700\text{ cm}^{-1}$ , debida a la fuerte absorción carbonílica típica de  $\gamma$ -tiolactonas insaturadas (47).

La banda de absorción del doble enlace exocíclico la hemos determinado por comparación con los espectros de los correspondientes espiroderivados, (en los que esta banda desaparece debido a la formación del puente de metileno) apareciendo a valores del orden de  $1600\text{ cm}^{-1}$  en las benciltiotiazolonas y algo más bajos, hacia  $1575\text{ cm}^{-1}$ , en las benciloxitiazolonas.

Por otra parte, también se aprecia la absorción debida a la vibración de los enlaces  $\text{-C=C-}$  del anillo aromático conjugado, hacia  $1580\text{ cm}^{-1}$  que también desaparece en los correspondientes espiroderivados.

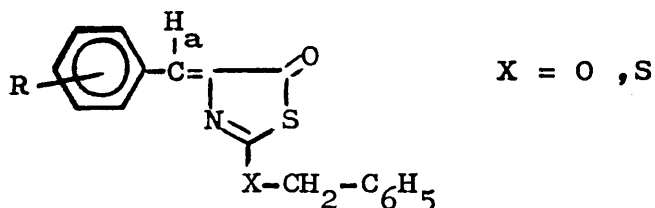
En cuanto a la absorción del enlace  $\text{-C=N-}$ , presenta valores diferentes según que se trate de una benciltió o de una benciloxitiazolona, siendo para los primeros del orden de -

1480  $\text{cm}^{-1}$  y para los segundos de 1625  $\text{cm}^{-1}$ , valores que están dentro del margen de absorciones de enlaces  $-\text{C}=\text{N}-$  conjugados cíclicos observados por otros autores (48).

En la tabla II de la parte III se recogen los valores individuales para cada compuesto.

### 3.- Espectros RMN de las 4-arilidén-5(4H)-tiazolonas

Su interpretación no ofrece grandes dificultades. En la zona de los protones aromáticos aparecen dos tipos de señales: un singlete deformado, hacia  $\delta=7.4$ , correspondiente al anillo aromático no sustituido, y dos o tres series de bandas debidas al anillo unido al doble enlace y cuyas posiciones dependen del tipo de sustitución.



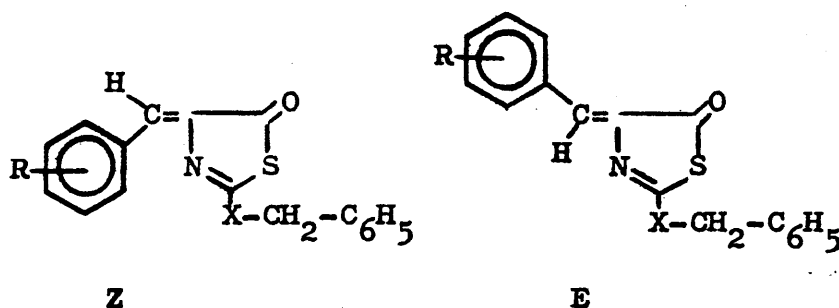
El protón vinílico aparece en ambas series como un singlete alrededor de  $\delta=7.0$ , excepto en el caso del derivado indólico que presenta un valor de  $\delta=7.3$ . Estos valores, como se discutirá en el apartado siguiente, están de acuerdo con una configuración Z para los compuestos en cuestión.

En cuanto al grupo  $-\text{CH}_2-\text{X}-$ , aparece como un singlete hacia  $\delta=4.5$  en la serie en que  $\text{X}=\text{S}$ , y hacia  $\delta=5.5$  en la que  $\text{X}=\text{O}$ .

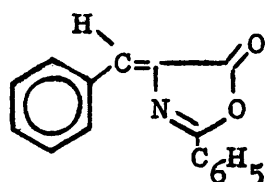
En la tabla III de la parte III se dan los valores individuales de los desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento para cada compuesto obtenido.

#### 4.- Estereoquímica

Como es posible teóricamente a la vista de sus estructuras, las 4-arilidén-5(4H)-tiazolonas pueden presentarse en dos formas, isómeros geométricos entre sí, E y Z.



El método utilizado por nosotros para preparar las 4-arilidén-5(4H)-tiazolonas está basado en el de Erlenmeyer-Plösch para la síntesis de oxazolonas. La estereoquímica de las oxazolonas preparadas por este método ha sido objeto de numerosos y conflictivos trabajos, que últimamente ha quedado bien establecida por Morgenstern (49) y Brocklehurst (50) al tratar el problema mediante RMN y espectroscopía de rayos X, dando como isómero estable el Z.



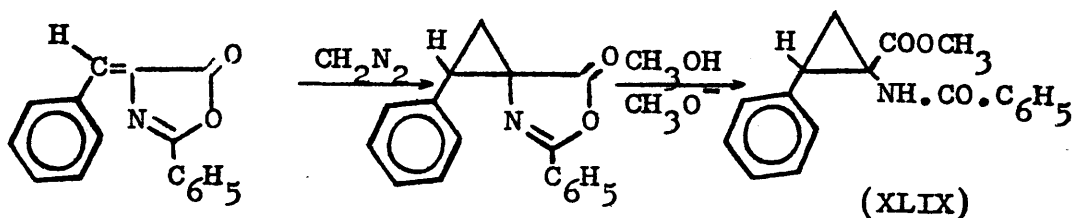
isómero "estable"  
Z

Los dos isómeros E y Z se pueden diferenciar a través de sus espectros de RMN en los que los protones vinílicos tienen diferentes desplazamientos químicos, siendo del orden de  $\delta=7.2$  para el isómero Z y de  $\delta=7.5$  para el E.

En nuestros compuestos, el protón vinílico aparece alrededor de  $\delta=7.0$ , valor que se acerca más a los isómeros Z que a los E de las correspondientes oxazolonas.

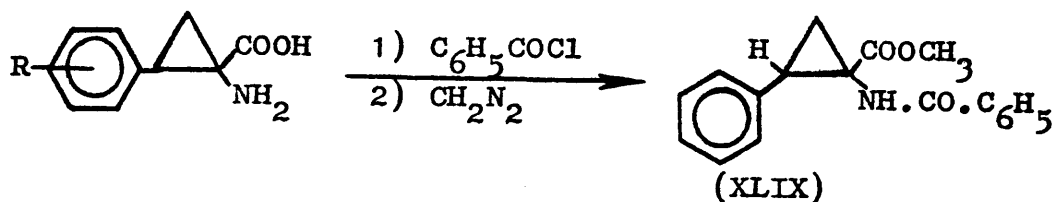
Por otra parte, en nuestro grupo de trabajo (51) se ha

estudiado la estereoquímica de una serie de arilidén-oxazolonas, trabajo en el que se prepararon varios pares de isómeros E y Z a los que se adicionó diazometano para formar el espiró derivado en cada caso, abriendo posteriormente el núcleo de oxazolona para dar E y Z 1-benzamido-2-aril-ciclopropanocarboxilatos de metilo. En el esquema siguiente se resume la serie de reacciones para el isómero Z:



Las mismas reacciones se hicieron con el isómero E.

Nosotros hemos preparado los compuestos (XLIX) cuando  $\text{R}=\text{H}$  y  $\text{R}=\text{4-OCH}_3$  por benzoilación y posterior metilación del correspondiente ácido 1-amino-2-fenil-ciclopropanocarboxílico obtenido a partir de la correspondiente 4-arilidén-5(4H)-tiazolona tal como se describió en el esquema I (pg. 27). Los compuestos obtenidos resultaron ser idénticos a los isómeros Z - obtenidos de las oxazolonas Z.



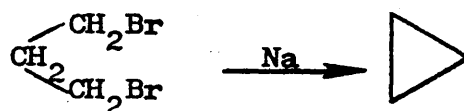
Lo cual demuestra que las 4-arilidén-tiazolonas (XXXVIII, esq. I, pg. 27) preparadas por nosotros, tienen configuración Z, pues como se discutirá más tarde (pg.50) la creación del anillo de ciclopropano transcurre de modo estereoselectivo.

II. PREPARACION Y PROPIEDADES DE 1-ARIL-5-BENCILTIO (6 bencil-oxi)-6-TIO-4-AZA-ESPIRO-(2,4)HEPT-4-EN-7-ONAS

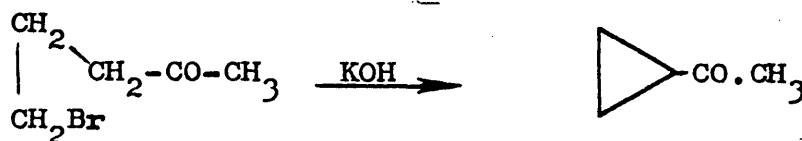
1.- Síntesis del anillo de ciclopropano

Existen varios métodos para la creación de un anillo de ciclopropano en una molécula. Fundamentalmente son los siguientes:

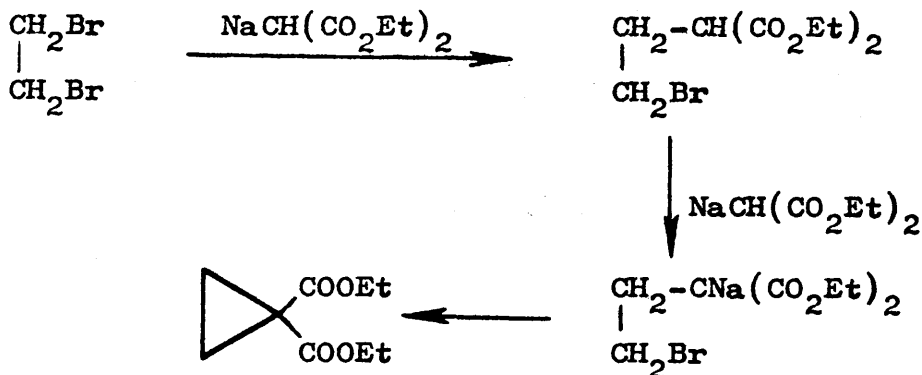
- A través de una reacción intramolecular de Wurtz.



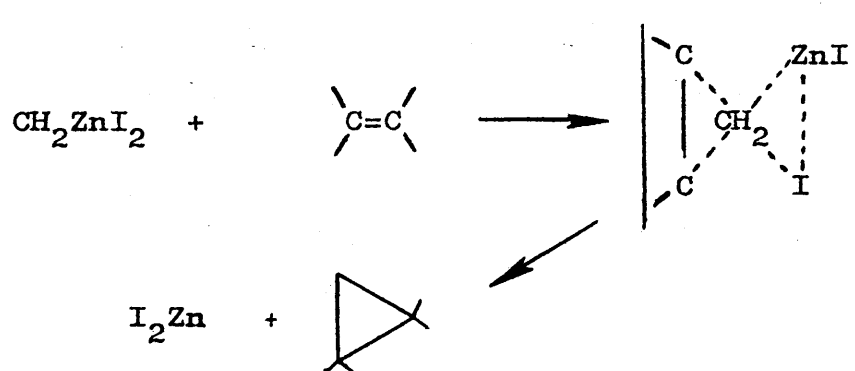
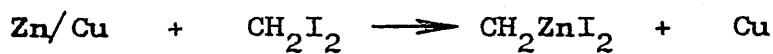
- Por deshidrohalogenación intramolecular.



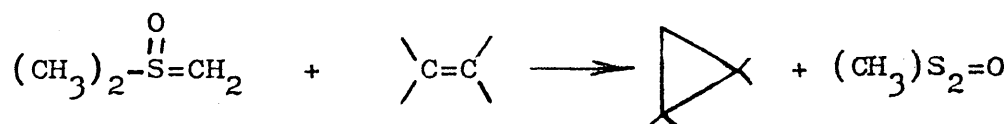
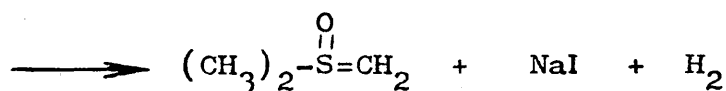
- Por reacción de sodio malonato de etilo con dihalogenos vecinales.



- A través de la reacción de Simmons y Smith (52). Según estos autores, la reacción transcurre de acuerdo con el esquema siguiente:



- Por reacción de dobles enlaces con yoduro de trimetil-sulfoxonio y una base fuerte (reacción de Corey) (53)



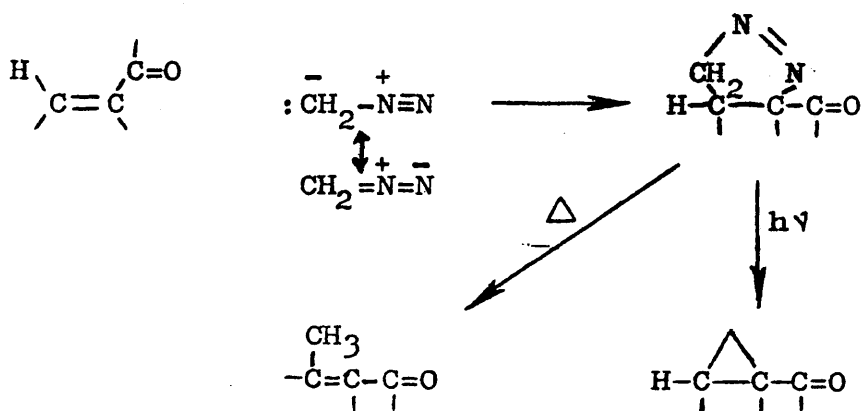
- Adición de diazometano a ésteres  $\alpha$ - $\beta$ -insaturados. Esta reacción, observada por Buchner en 1888 (54), fué empleada posteriormente por diversos investigadores y ampliamente estudiada en la bibliografía (55).

El método elegido para la formación del espiroderivado ha sido este último, ya que existían antecedentes sobre ello en la bibliografía para las oxazolonas (20) (32) (33).

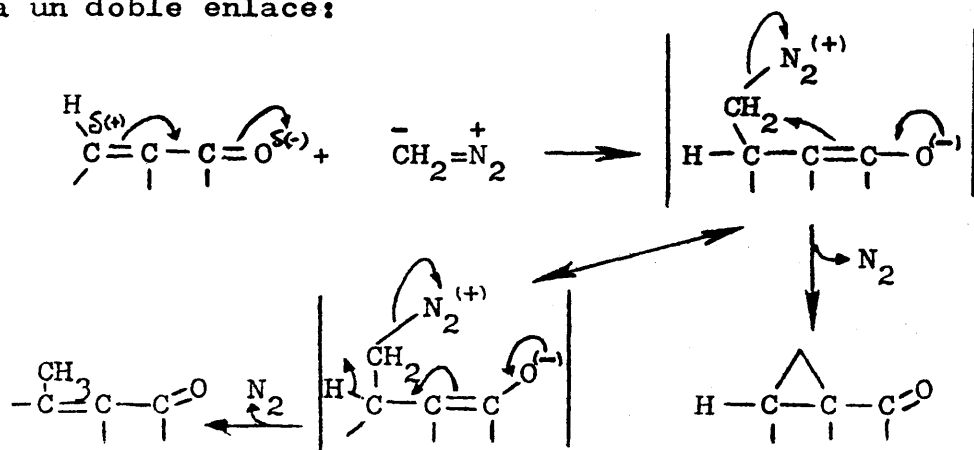
El mecanismo por el que transcurren las reacciones de adición de diazometano es muy incierto y no hay ningún criterio por el que se pueda asegurar que vaya por un determinado camino. A continuación se dan los más probables:

a) En algunos casos se han aislado pirazolinas intermedias que posteriormente por calentamiento o fotólisis se descomponen con desprendimiento de nitrógeno, dando el ciclopropil derivado, el metil derivado o una mezcla de productos, - tal como ocurre en el caso de la 3-acetamido-3-metoxicarbonyl-4-fenil- $\Delta^1$ -pirazolina obtenida en la adición de diazometano al ácido  $\alpha$ -acetamidocinámico.

Un posible mecanismo sería el siguiente:



b) En otros casos, no se han detectado pirazolinas intermedias, apreciándose sin embargo desprendimiento de nitrógeno, lo cual hace suponer un mecanismo de adición dipolar Michael a un doble enlace:



Se cree que este mecanismo ocurre preferentemente en fase líquida y a temperatura ambiente.

c) En fase gaseosa, muy probablemente, la reacción transcurre a través de un carbeno, que se forma a altas temperaturas o por acción de la luz o de ciertos catalizadores.



En nuestro caso es muy difícil establecer un mecanismo de adición, dada la diversidad de productos obtenidos en la reacción, cuya presencia podría explicarse en principio por varios tipos de mecanismos, que pueden producirse incluso simultáneamente, como veremos a continuación.

## 2.- Adición de diazometano a 4-arilidén-5(4H)-tiazolonas

Basándonos en los antecedentes de adición de diazometano a 4-arilidén-oxazolonas y otros sistemas parecidos, intentamos la preparación de espirotiazolonas con dicho reactivo.

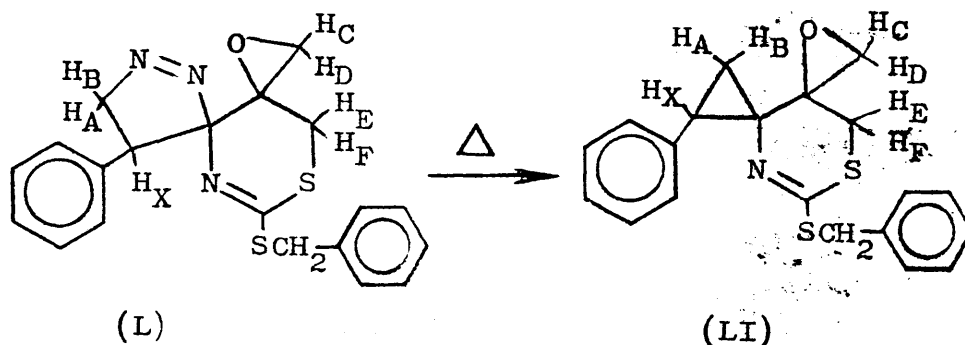
La adición de diazometano en éter a 4-bencilidén-2-benciltío-5(4H)-tiazolona dió una mezcla compleja de productos, de la que espontáneamente se separó una masa cristalina constituida por dos componentes, uno de los cuales resultó ser el espiroderivado deseado (XXXIII) y el otro un compuesto, cuyo análisis elemental mostró ser el producto de reacción de la tiazolona con tres moles de diazometano, con pérdida de dos moles de nitrógeno, y en cuya molécula aparecía un anillo de pirazolina.

A fin de tratar de evitar en lo posible la formación de este último compuesto, ensayamos la adición de diazometano a más alta temperatura, pensando que así podría favorecerse la descomposición del anillo de pirazolina. Para ello, y en vista del bajo punto de ebullición del éter, se hizo reaccionar la tiazolona con diazometano en benceno, a 40-45°C. Así se obtuvo una mezcla de productos, como anteriormente, pero en la

que solo se detectaron trazas de la pirazolina mencionada, - mientras el espiroderivado deseado cristalizó con rendimiento aceptable.

La adición de la tiazolona sobre un gran exceso de diazometano en éter, a 0-2°C, produjo, como era de esperar, el efecto contrario, consiguiéndose aislar ahora, con 65-70% de rendimiento, el producto de adición de tres moles de diazometano, mientras el espiroderivado apenas si se hallaba presente en la mezcla de reacción.

Por datos espectroanalíticos, que comentaremos a continuación, llegamos a la conclusión de que la estructura del producto de adición es la indicada en (L).



Los hechos más relevantes que condujeron al establecimiento de la estructura de este compuesto diespiránico son los siguientes:

El análisis elemental dió una fórmula molecular  $C_{20}H_{19}N_3OS_2$ . En el espectro IR se hace notar la ausencia de señales significativas hacia 1600-1700, así como la presencia de una banda de tensión C=N a  $1595\text{ cm}^{-1}$ .

En el espectro de  $^1\text{H-RMN}$  (ver fig. 1), destacan la existencia de un sistema ABX,  $\delta_X=3.32$  ( $J_{AX}=7.2\text{ Hz}$ ,  $J_{BX}=8.4\text{ Hz}$ ) -

$\delta_{A+B}=4.8$  ( $J_{AB}=-17.6\text{ Hz}$ ), asimilable a un anillo de pirazolina, además de dos sistemas AB (protones C, D y E, F) con señales a  $\delta_D=2.67$   $\delta_F=2.85$   $\delta_E=3.38$  y  $\delta_C=3.56$ . Las constantes de acoplamiento geminales  $J_{EF}=-12.5\text{ Hz}$  y  $J_{CD}=4.6\text{ Hz}$  corresponden

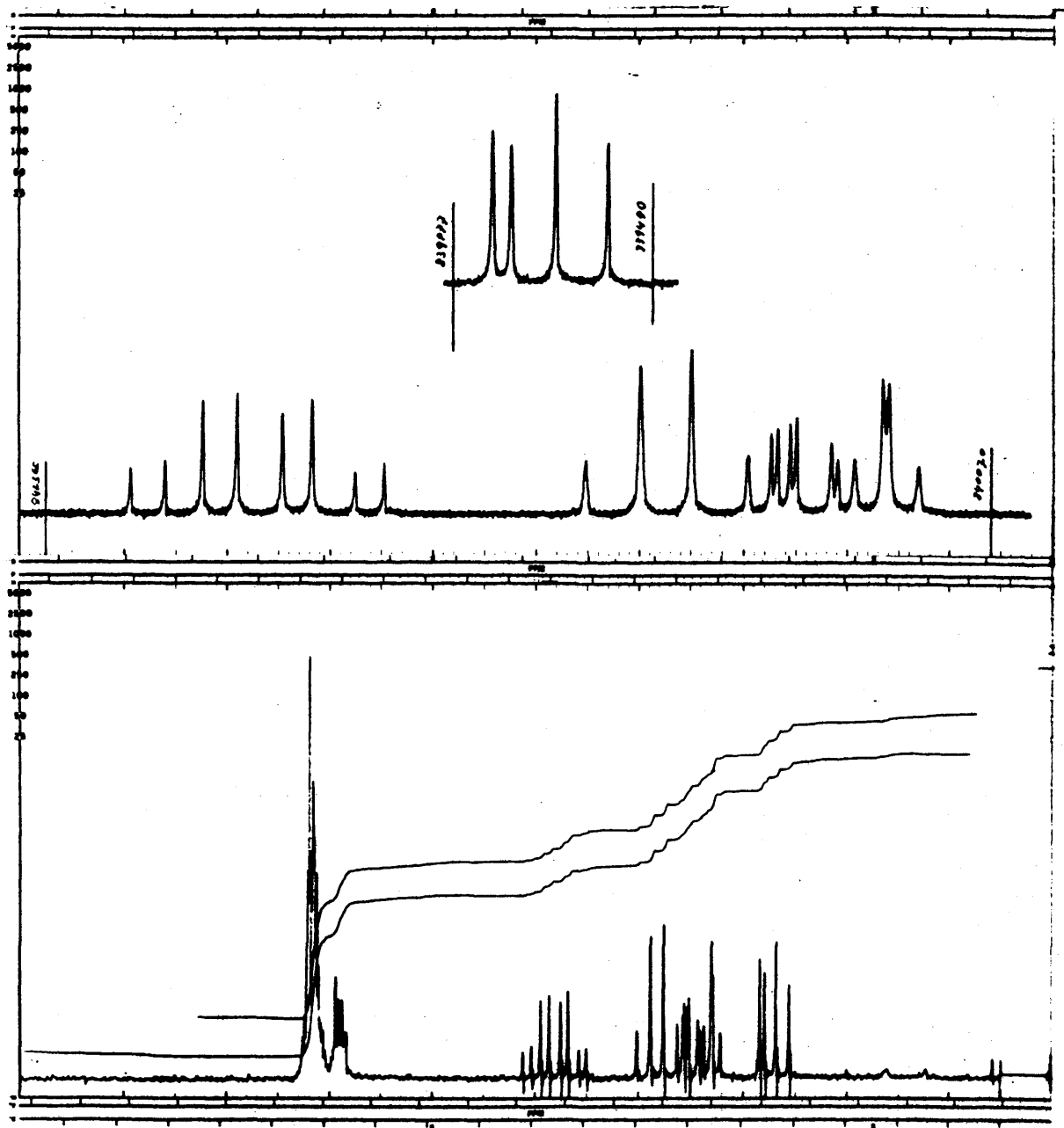
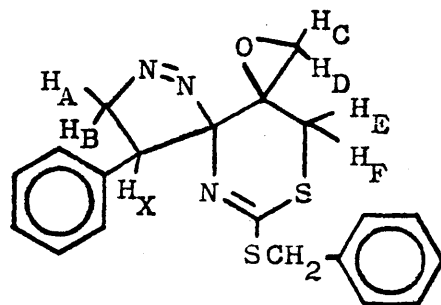


Fig. 1



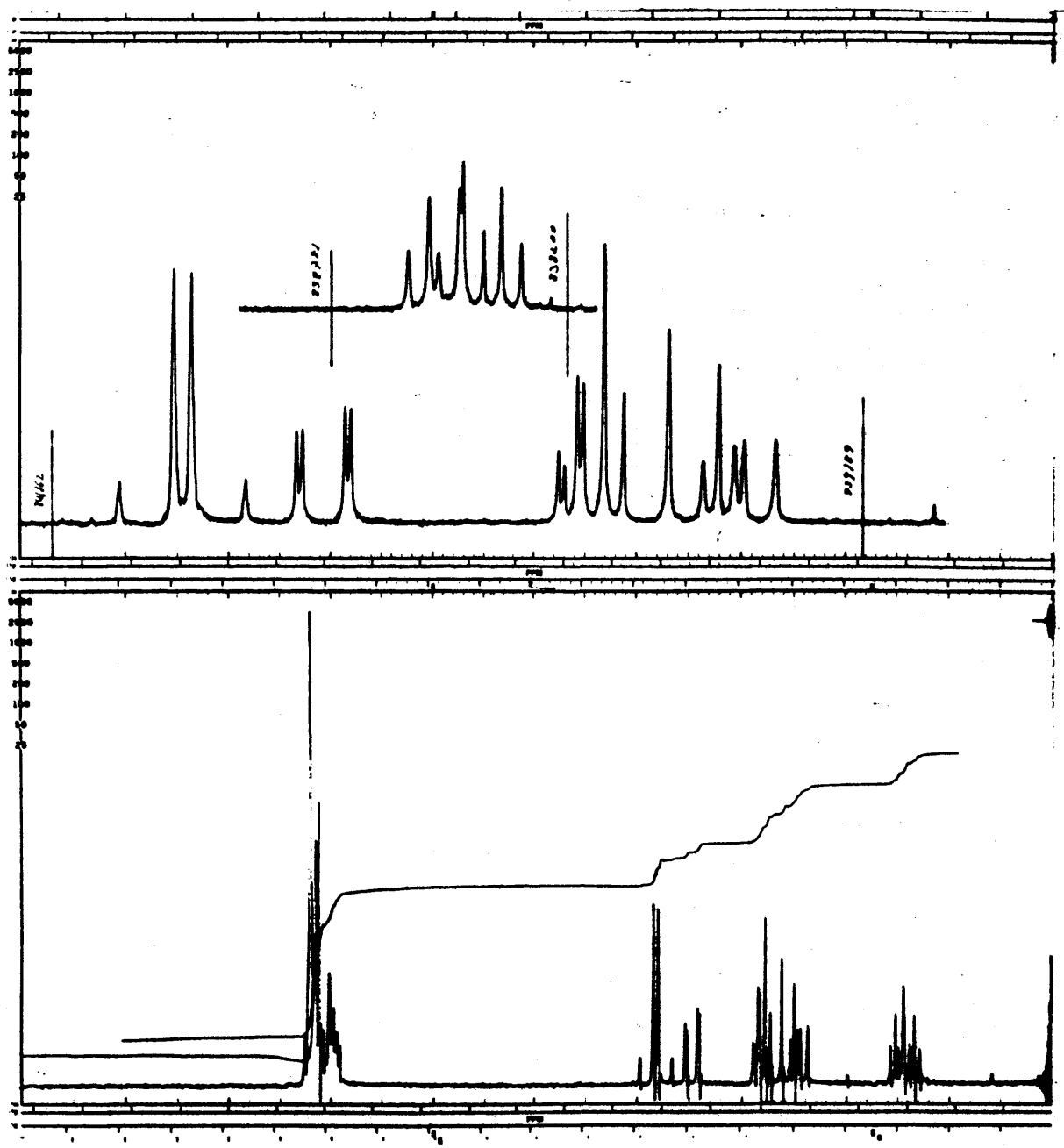
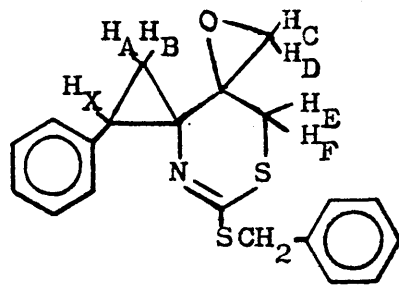


Fig. 2



perfectamente a las que se hallan en la bibliografía para anillos de seis y tres miembros, respectivamente.

Se observa, además, una constante de acoplamiento a larga distancia,  $J_{CE}=1.5$  Hz.

La observación del espectro RMN de  $^{13}C$  confirma la ausencia de  $C=O$ , así como la presencia de  $\text{>C=N}$  (159.5 p.p.m). Aparecen, entre otras, dos señales a 53.2 y 56.0 p.p.m, asignables a los carbonos del anillo de oxirano.

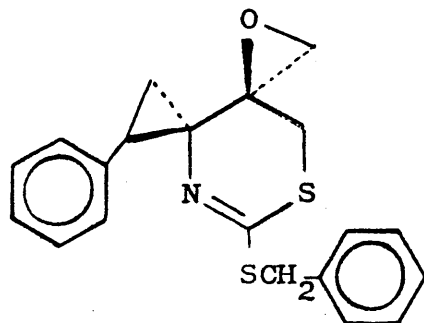
El espectro de masas dió una falsa masa molecular  $M^+=353$ , inferior a la que realmente posee ( $M^+=381$ ), debido a que el producto descompone en la cámara de ionización.

En efecto, si se calienta (L) (pg. 41) hasta su p.f., la espiropirazolina descompone, con desprendimiento de nitrógeno, y se obtiene un nuevo compuesto (LI) (pg. 41), de fórmula molecular  $C_{20}H_{19}NOS_2$  que mantiene la banda IR hacia  $1595\text{ cm}^{-1}$  ( $C=N$ ), y cuyo espectro de masas arroja una masa molecular  $M^+=353$ .

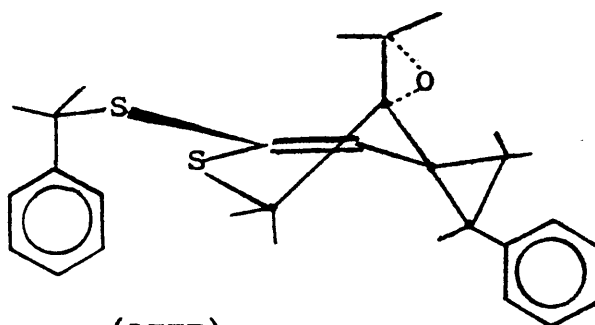
El espectro de  $^1H$ -RMN (ver fig. 2) muestra una estructura básica análoga al de (L), con una diferencia a resaltar: la desaparición del sistema ABX del anillo de pirazolina y aparición de un nuevo sistema ABX,  $\delta_X=2.43$  ( $J_{AX}=7.5$ ,  $J_{BX}=9.5$ ),  $\delta_{A+B}=1.41$  ( $J_{AB}=-5.1$ ). Los desplazamientos químicos y, en especial los valores de las constantes de acoplamiento, inducen a pensar en la formación de un anillo de ciclopropano a partir del de pirazolina. El resto del espectro, es asimilable al de (L) (pg. 41), con variaciones en los desplazamientos químicos, manteniéndose prácticamente iguales las constantes de acoplamiento.

La Dra. M<sup>a</sup> Luisa Martínez, del Departamento de Rayos X - del Instituto Rocasolano, realizó un estudio por rayos-X del compuesto (LI) (pg. 41), confirmando la estructura propuesta, y obteniendo la configuración que se indica en la fórmula (LII) y una conformación de media silla (ver fórmula (LIII)).

En solución de cloroformo, la constante de acoplamiento a larga distancia, ya mencionada ( $J_{CE}=1.5$  Hz), igual tanto para la espiropirazolina como para el espirociclopropano, parece señalar hacia una disposición en W para dichos protones, inicialmente posible en la conformación de media silla, según se deduce de la observación de los modelos Dreiding.



(LIII)



(LIIII)

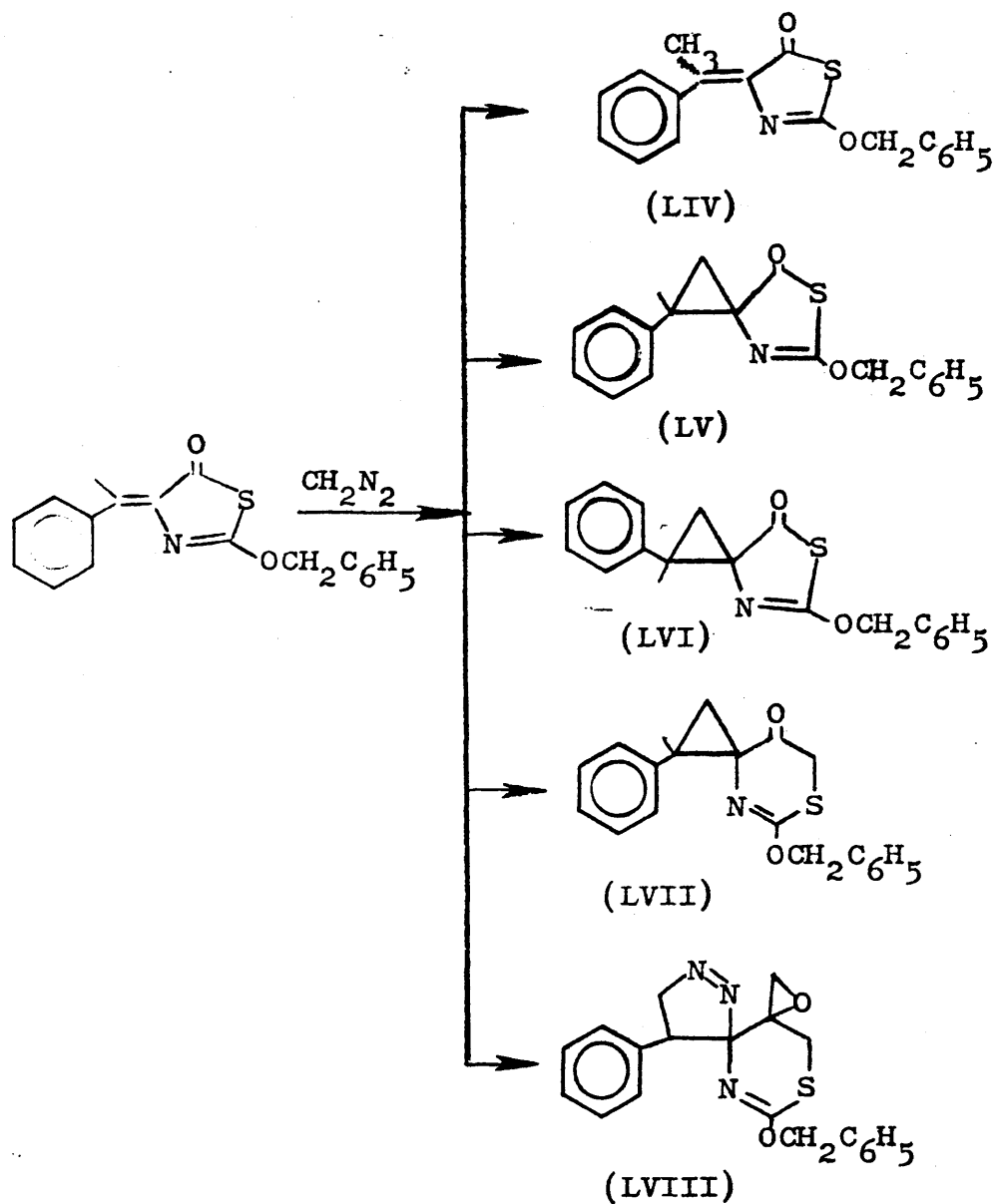
Con el fin de tener un panorama más completo de la adición de diazometano a 4-arilidén-tiazolonas, se aislaron en un caso, por cromatografía de capa fina preparativa, todos los productos que se obtienen en la reacción. Los resultados se indican en el esquema (IV) (pg. 46).

Como podemos observar, la reacción da lugar a la adición de un mol de diazometano, (estructuras LIV, LVy LVI); dos moles de diazometano (LVII) y tres moles de diazometano (LVIII).

De ello parece desprenderse que la reacción pudiera tener lugar por una adición de tipo Michael del diazometano al doble enlace exocíclico.

Si las condiciones del medio favorecen la estabilización de la betaína (o de la pirazolina formada), tiene lugar la adición de un segundo mol de diazometano, con expansión del anillo de tiazolina a 1,3 tiazina. Si en ese momento se destruye la betaína (o la pirazolina), formando el anillo de ciclopropano, la reacción se detiene, llegándose a (LVII). Por último, si sigue estabilizada la betaína, se adiciona el tercer mol de diazometano al C=O dando lugar a (LVIII).

Esquema IV

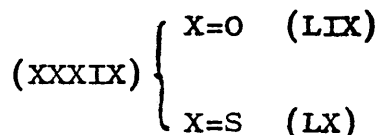
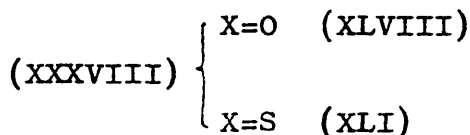
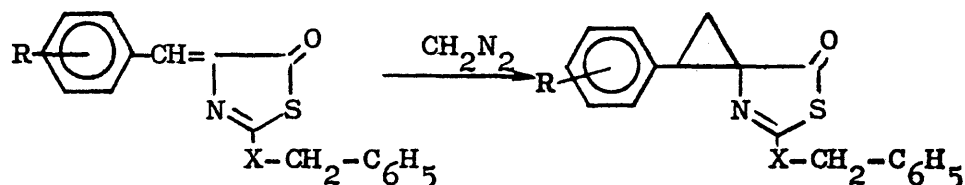


El que esto pudiera tener lugar así, parece venir apoyado por el hecho de que no se ha detectado el compuesto con -ciclopropano, expansión de tiazolidina y oxirano, y el que los intentos de expandir el anillo de tiazolidina de (LV) con -diazometano han resultado siempre infructuosos.

3.- 1-aril-5-benciltio (ó benciloxi)-6-tio-4-aza-espiro-(2,4) hept-4-en-7-onas

Como ya hemos mencionado en el apartado anterior, el esquema general de síntesis para la obtención de estos compuestos es el siguiente:

Esquema V



a) Adición de diazometano a las 2-benciloxi-4-arilidén-5-(4H)-tiazolonas

La adición de diazometano a las 2-benciloxi-4-arilidén-5 (4H)-tiazolonas (XLVIII) en benceno a 45-50°C, en los casos en que R= H; 4-OCH<sub>3</sub>; 4-NO<sub>2</sub>; 4-Cl; 4-OCOCH<sub>3</sub>; 3-OCOCH<sub>3</sub>, condujo a los correspondientes espiroderivados con rendimientos que oscilan entre 25 y 50%.

En el caso del 3,4-dimetoxibenzaldehído, de la compleja mezcla de reacción, no logró aislarse el espiroderivado.

En el caso de 4-benciloxibenzaldehído, bajo las condiciones ordinarias de la reacción, incluso cuando ésta se realizaba a temperaturas algo superiores (unos 65°C), se aisló como producto mayoritario el de adición de tres moles de diazometano.

b) Adición de diazometano a las 2-benciltio-4-arilidén-5(4H)-tiazolonas

La adición de diazometano a las 2-benciltio-4-arilidén-5 (4H)-tiazolonas (XLI), en las que R= H; 4-OCH<sub>3</sub>; 3-OCH<sub>3</sub>; 4-NO<sub>2</sub>; 4-CH<sub>3</sub>; 4-Cl; 3-Cl; 4-F; 3,4-O-CH<sub>2</sub>-O-; 4-OCOCH<sub>3</sub>; 3-OCOCH<sub>3</sub>; 3,4-OCOCH<sub>3</sub> y 4-OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, condujo a los correspondientes espiro-

roderivados con rendimientos que oscilan entre 40-50%, mientras que cuando  $R=4-N(CH_3)_2$  se aisló como producto único el metilderivado, de estructura similar a la del compuesto (LIV) (esq. IV, pg. 46).

En general los rendimientos de espiroderivados son mejores para los benciltío- que para los benciloxiderivados, encontrándose en las dos series los rendimientos mayores cuando el anillo aromático porta un grupo acetoxi.

c) De la adición de diazometano a las tiazolonas ((XXXVIII), esq. V, pg. 47) en las que el núcleo bencénico ha sido sustituido por uno heterocíclico (indólico o piridínico), el espiro derivado correspondiente se obtiene con muy bajo rendimiento (del 2% para el derivado indólico, y del 1% para el piridínico), por lo que éste no se considera método preparativo para el tipo de compuestos que se quieren obtener.

Todos los ciclopropilderivados ((XXXIX), esq. V, pg. 47) han sido identificados por técnicas de análisis elemental, espectros IR y RMN y sus propiedades se resumen en la tabla IX de la parte III.

#### 4.- Espectros IR de las 1-aril-5-benciltío (ó benciloxi)-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas

Lo más característicos de los espectros IR de estos compuestos es la desaparición de la banda correspondiente al doble enlace exocíclico que presentaban las 4-arilidén-tiazolonas.

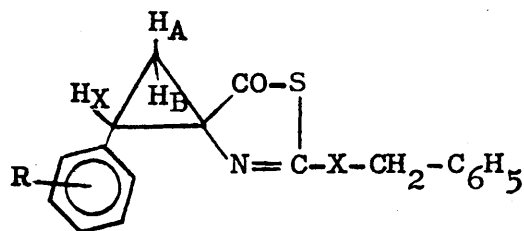
La absorción carbonílica para los espiroderivados es del orden de  $1720\text{ cm}^{-1}$ , tanto en el caso de los benciloxi como en el de los benciltíoderivados, valor ligeramente superior al presentado por las 4-arilidén-tiazolonas de  $1700\text{ cm}^{-1}$ , debido posiblemente a la desaparición de la conjugación con el doble enlace exocíclico.

La absorción del enlace  $C=N$  aparece a valores entre  $1620-1630\text{ cm}^{-1}$  para los benciloxiderivados y hacia  $1550\text{ cm}^{-1}$  para los benciltíoderivados, valores muy parecidos a los presentados por las correspondientes 4-arilidén-tiazolonas en el caso

de los benciloxi, y ligeramente superiores en el caso de los benciltíoderivados.

Los valores individuales para cada compuesto se resumen en la tabla X de la parte III.

5.- Espectros RMN de las 1-aril-5-benciltío (ó benciloxi)-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas



Lo más característico de estos compuestos es el sistema que forman los tres protones del anillo de ciclopropano. Teóricamente debería de resultar un complejo sistema ABX ya que el protón X está desdoblado con valores de J distintos por los protones A y B, y los protones A y B lo están por el X y entre sí.

En los benciltíoderivados los tres protones del anillo de ciclopropano se resuelven, en efecto, como un sistema ABX, apareciendo la parte AB como un multiplete (seis u ocho picos) hacia valores de  $\delta=2.3$ , y el protón X como un multiplete (cuatro señales) hacia  $\delta=3.2$ . En algunos casos ( $R=3-Cl$ ;  $4-Cl$ ;  $4-F$ ;  $3,4-OCH_2O-$ ;  $3-OCH_3$ ) en los que la parte AB no es interferida por los desplazamientos químicos de algún otro grupo de la molécula, (grupos  $CH_3$  de los acetoxilos), el sistema se resolvió teóricamente, encontrándose unos valores para las constantes de acoplamiento del orden de  $-4$  Hz para la geminal y de  $8.5$  y  $10$  Hz para las vecinales,  $J_{BX}$  y  $J_{AX}$  respectivamente. Los valores encontrados concuerdan con los descritos para ciclopropanos (56).

En los benciloxiderivados el sistema ABX se resuelve de una manera aparentemente más sencilla, estando los dos multipletes, que teóricamente deberían de presentar los protones A y B, colapsados en un doblete deformado hacia

$\delta=2.2$  mientras que el protón X aparece como un triplete hacia  $\delta=3.1$

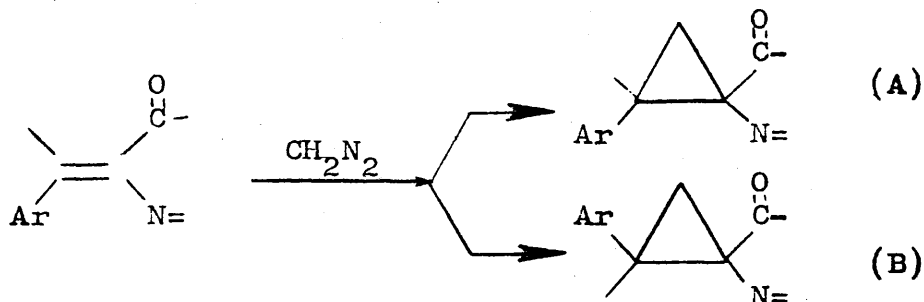
En cuanto a los dos protones del sistema  $\text{CH}_2\text{-X}$  cuando  $\text{X=S}$  aparecen, en la mayor parte de los casos, como dos dobletes correspondientes a un sistema AB, con unos desplazamientos químicos del orden de  $\delta=4.3$  y  $4.1$ , y una constante de acoplamiento de  $-14\text{Hz}$ ; apareciendo, sin embargo, como un singlete a  $\delta=4.3$  cuando el anillo bencénico posee un grupo acetoxilo en la posición 3.

En el caso de los benciloxiderivados, en algunos compuestos ( $\text{R= H; 4-NO}_2; 3\text{-OCOCH}_3$ ), los dos protones del grupo  $\text{CH}_2\text{-O}$  aparecen como un singlete hacia  $\delta=5.3$ , mientras que en otros ( $\text{R= 4-OCH}_3; 4\text{-Cl; 4-OCOCH}_3$ ) aparecen como un sistema AB, presentando unos desplazamientos químicos de  $\delta=5.4$  y  $\delta=5.1$ , y una constante de acoplamiento de  $-12\text{Hz}$ .

Los valores individuales de los desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento, para cada compuesto, se recogen en la tabla XI de la parte III.

## 6.- Estereoquímica

En la página 35 hemos discutido la estereoquímica de los 4-arilidéntiazolonas, aportando pruebas de una configuración Z para aquéllas, es decir, con una orientación trans referida a los sustituyentes arilo y  $\text{C=O}$ . La adición del grupo  $\text{-CH}_2\text{-}$  con diazometano al doble enlace puede o no transcurrir con retención de la configuración, de modo que, aún partiendo del isómero Z de las 4-arilidéntiazolonas es posible obtener dos espirotiazolonas isómeras A y B, según el esquema siguiente:



En el caso A hay retención de la configuración; en el caso B hay inversión. Esta inversión se puede producir, si en el curso de la inserción del grupo metileno hay tiempo suficiente para que se produzca un giro sobre el enlace C-C, - que inicialmente era doble. Que esta inversión ocurra o no depende del mecanismo de la reacción que, como se ha discutido en la página 39, no está aclarado.

No obstante, el hecho experimental en oxazolonas (51), como ya anotamos en la pag. 36, es que la reacción transcurre estereoselectivamente, y da lugar a muy escasa inversión.

Por todos los datos que poseemos, esto parece ser también lo que ocurre en el caso de las tiazolonas.

Por comodidad y a fin de conservar la nomenclatura Z y E, propuesta inicialmente para derivados de etileno (83), para el caso de los espiroderivados, hemos generalizado la nomenclatura Z y E a compuestos cíclicos. Esta generalización no sabemos que haya sido utilizada anteriormente, pero creemos que es completamente válida, sin más que tomar ahora como plano de referencia el plano que contiene el anillo, en este caso de ciclopropano. Así pues, y respetando todas las demás reglas, los productos de configuración A obtenidos por inserción del metileno en las 4-arilidéntiazolonas de configuración Z y con retención de la configuración (trans arilo y C=O) se denominan de ahora en adelante espiroderivados de configuración Z. Lógicamente, a los isómeros

B (cis arilo y C=O) les corresponde la configuración E.

Los espectros RMN de las ciclopropiltiazolonas Z y E - obtenidas a partir de la (Z)-4-bencilidéntiazolona presentan diferencias mínimas. Los espectros son prácticamente idénticos, con la única diferencia de que el isómero Z presenta los protones del C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> como un singlete a  $\delta=7.25$  y - el isómero E a  $\delta=7.42$ . Asimismo, el protón X del ciclopropano aparece a  $\delta=3.1$  (Z) y  $\delta=3.4$  (E).

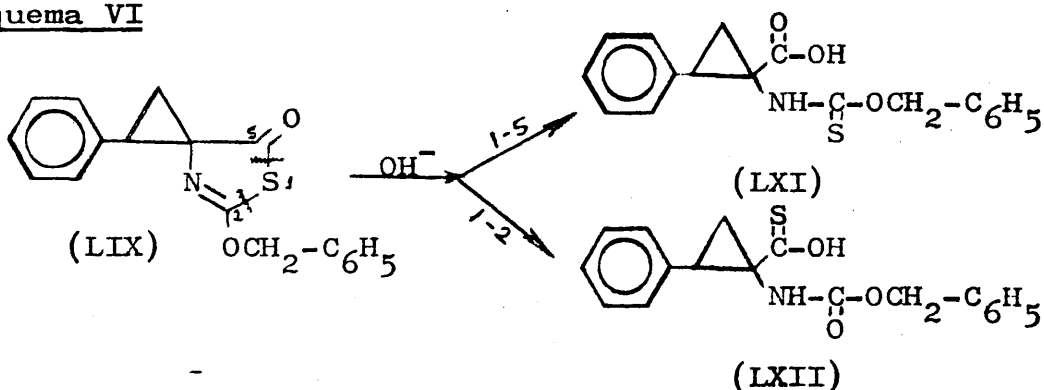
III. REACCIONES DE HIDROLISIS BASICA DE LAS 1-ARIL-5-BENCIL-OXI (ó benciltío)-6-TIO-4-AZA-ESPIRO-(2,4)HEPT-4-EN-7-ONAS

1.- Hidrólisis básica de las 2-aryl-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas

a) Hidrólisis parcial.- Apertura del anillo de tiazolona

En una hidrólisis a temperatura ambiente con potasa etanólica o acuosa de los benciloxiespiroderivados (LIX) se obtiene un producto, que según su análisis elemental y espectro de RMN, parece que se trata de una mezcla de los dos ácidos resultantes de la apertura del anillo de tiazolona por las uniones 1-5 y 1-2, tal como muestra el esquema siguiente:

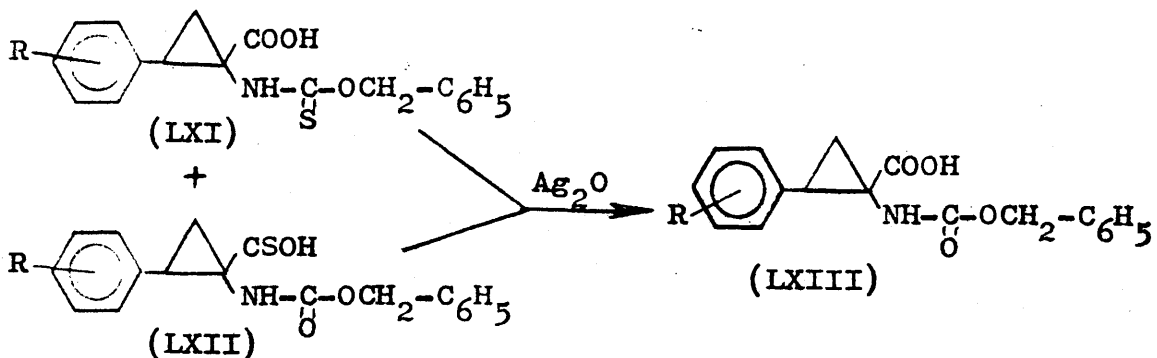
Esquema VI



En algunos casos, cuando la reacción se hace con etanol-potasa, se obtiene mezcla de los ésteres etílicos de los compuestos (LXI) y (LXII).

Dado que esta mezcla de productos no fué posible separarla por los métodos usuales, y que en los espectros IR de la misma están un tanto oscuros en cuanto a su interpretación, se hizo la desulfuración de la misma, con el fin de obtener un único producto, según el esquema siguiente:

Esquema VII

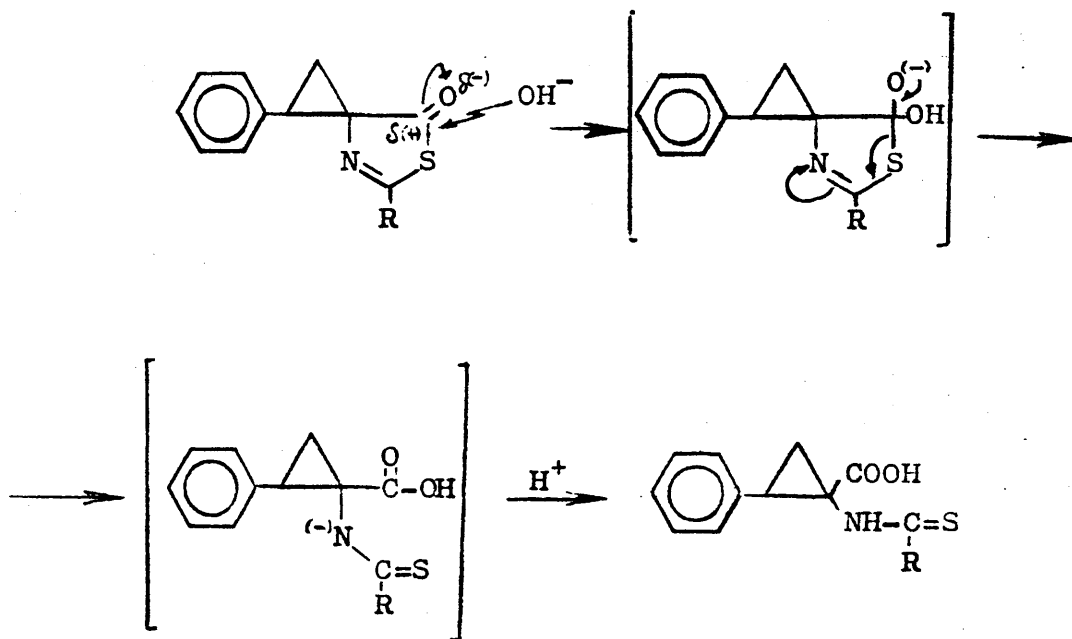


Un antecedente para estas reacciones de desulfuración lo encontramos en los trabajos de Mustafá y col. (33) y cuyo esquema se dió en la pg. 16.

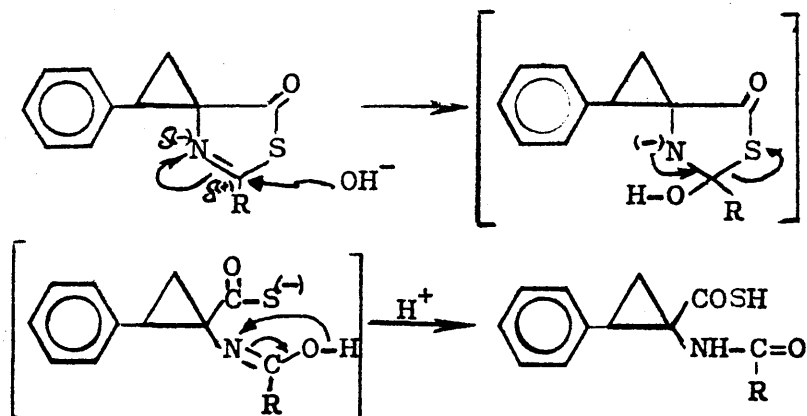
La apertura del anillo de tiazolona con metóxido sódico-metanol conduce a una mezcla de los ésteres metílicos de los ácidos (LXI) y (LXII) que también fué desulfurada con  $Ag_2O$  resultando el éster metílico del ácido (LXIII).

El mecanismo de hidrólisis sería el siguiente:

Ruptura 1-5:



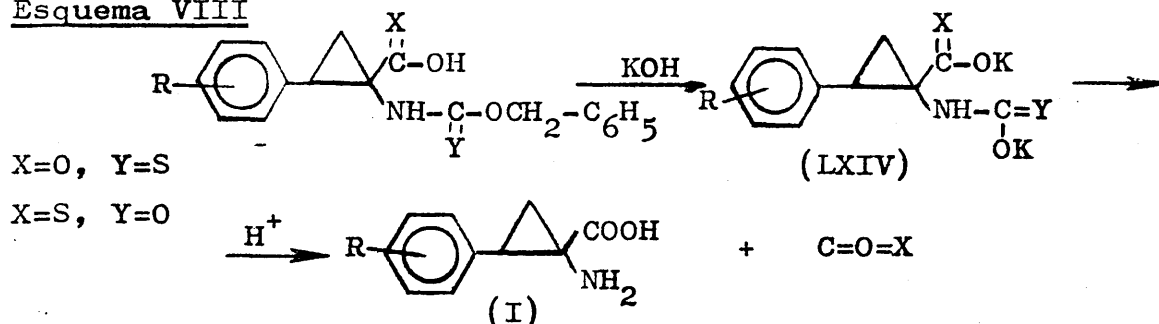
Ruptura 1-2:



b) Hidrólisis total

En una hidrólisis más enérgica, con potasa etanólica a reflujo durante 1 hora, tiene lugar la pérdida del grupo benciloxi formándose una disal, que descompone espontáneamente en medio ácido dando lugar al aminoácido (I), el cual cristaliza en medio neutro (punto isoeléctrico) tal como muestra el esquema siguiente:

Esquema VIII



c) Preparación de los ácidos 1-amino-2-aryl-ciclopropanocarboxílicos vía benciloxiespiroderivados

La hidrólisis básica a fondo, con potasa etanólica a reflujo durante 1 hora, de las 1-aryl-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas, conduce a los aminoácidos de fórmula general (I) en los casos en que R= H; 4-OCH<sub>3</sub>; 4-Cl, con rendimientos que oscilan entre el 20 y 40%. Cuando R=4-NO<sub>2</sub>, la hidrólisis lleva a la obtención de residuos negruzcos intratables, y algo parecido ocurre cuando el sustituyente es un grupo hidroxilo, dada la susceptibilidad a la oxidación de dicho gru-

po en medio alcalino y temperaturas elevadas.

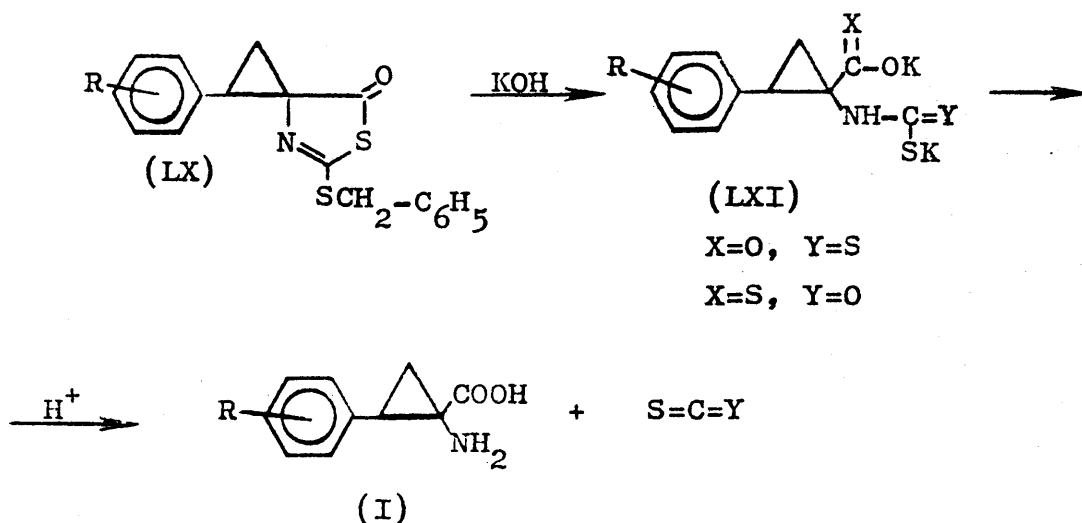
En el caso de  $R=4-OCH_2C_6H_5$ , no logró llegarse al aminoácido final, resultando una mezcla de los productos (LXI) y (LXII) ( $R=4-OCH_2C_6H_5$ , esq. VII), que se desulfuró con  $Ag_2O$  obteniéndose el correspondiente ácido (LXIII) (esq. VII). Todos los intentos de eliminar el resto benciloxicarbonilo resultaron infructuosos.

2.- Hidrólisis básica de las 2-aryl-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas

a) Hidrólisis total

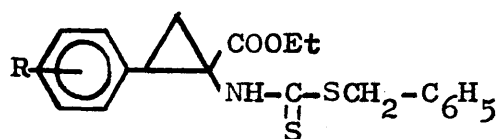
El anillo de tiazolona que soporta un grupo benciltio es sensiblemente más lábil a la hidrólisis básica que el que soporta un grupo benciloxi. Así, con una hidrólisis suave con potasa etanólica a temperatura ambiente, se llega a la disal potásica del ácido carbámico correspondiente al aminoácido, el cual se forma y descompone espontáneamente al acidular, dando el aminoácido (I) tal como muestra el esquema siguiente:

Esquema IX

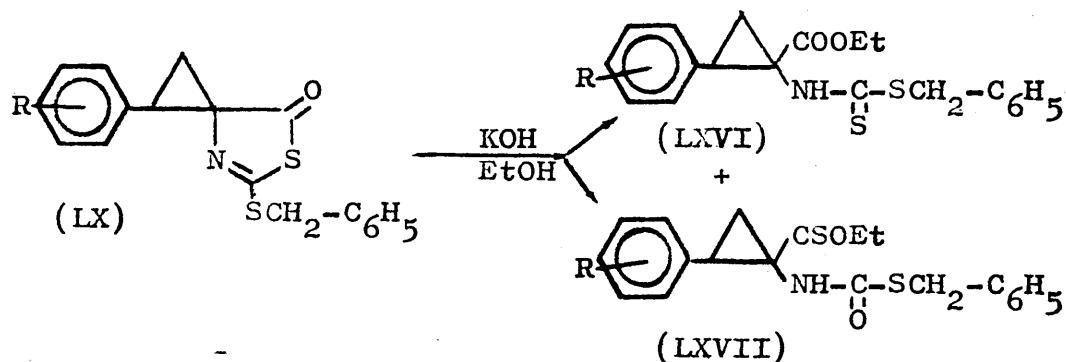


b) Hidrólisis parcial: apertura del anillo de tiazolona

En algún caso aislado, cuando la hidrólisis se realiza en medio etanólico, la reacción se detiene con la apertura del anillo de tiazolona, por insolubilidad de los productos formados en el medio de reacción. Según su análisis elemental y espectros IR y RMN, la composición de la mezcla obtenida en esta apertura del anillo de tiazolona es la que se da en el esquema X, aunque como se discutirá posteriormente, la supuesta mezcla podría ser un único producto con la estructura siguiente:



Esquema X



La formación de estos compuestos se ha observado en la hidrólisis con tampón bórico-borato a pH=12 del compuesto (LX) (R=H) en medio etanólico, realizada con objeto de poner a punto un método para la obtención de aminoácidos de estructura catecólica (ver pg.59). También se observó cuando se hacía la hidrólisis a 0°C del compuesto (LX) (R=3-OH). Su formación se evita cuando la reacción se lleva a cabo en medio dioxano-agua.

Los espectros IR y RMN de estos compuestos (R=H), concuerdan con los de los productos obtenidos al abrir el anillo de tiazolona de (LX) (R=H) con metóxido sódico en metanol, en experiencias paralelas realizadas por nuestro grupo de trabajo - (57).

c) Preparación de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos vía hidrólisis de los benciltióderivados

La hidrólisis básica con potasa etanólica (1 hora, a temperatura ambiente) de los benciltio-espiroderivados conduce a los aminoácidos de fórmula general (I) (esq. IX, pg. 55), - con rendimientos mejores que en la correspondiente serie de los benciloxiderivados. De este modo se obtuvieron los aminoácidos de fórmula general (I) en los que R= H; 4-OCH<sub>3</sub>; 3-OCH<sub>3</sub>; 4-CH<sub>3</sub>; 4-Cl; 3-Cl; 4-F; 2,3-OCH<sub>2</sub>O; con rendimientos que oscilan entre el 25 y el 75%.

Cuando R=4-OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, el supuesto aminoácido (I) presenta una anomalía en cuanto se refiere a sus espectros RMN y masas, además de no formar el correspondiente hidrocloreuro. Estas anomalías se discutirán más adelante.

La estructura de los aminoácidos obtenidos se determinó - fundamentalmente por técnicas de IR y RMN, no pudiendo obtenerse en casi ningún caso análisis elementales satisfactorios, - por retener cantidades variables de agua, que no fué posible eliminar por prolongados secados a vacío con P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, resultando, sin embargo, correctos los análisis de los correspondientes hidrocloreuros.

Al igual que en las hidrólisis de los benciloxiespiroderivados, los compuestos de fórmula general (I) en los que R es al menos un grupo OH no lograron prepararse según el método - empleado para los demás aminoácidos de la serie, obteniéndose en este caso productos negruzcos intratables, por lo que hubo que recurrir a métodos que se discuten a continuación.

d) Preparación de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos con algún grupo hidroxilo en el núcleo bencénico

Debido a la facilidad de oxidación que en medio básico presentaban los aminoácidos con algún sustituyente hidroxilo en el núcleo aromático, se pensó en prepararlos por desmetilación de los ácidos 1-amino-2-metoxifenilciclopropanocarboxílicos - que se obtenían sin dificultad.

Dado que el anillo de ciclopropano, en los aminoácidos ya obtenidos, resistía un medio ácido fuerte, como era el empleado en la formación de sus hidrocioruros, se utilizó  $\text{BrH}-\text{AcH}$  en caliente como agente desmetilante (57a), resultando infructuosos los intentos de desmetilación. Se utilizó entonces el  $\text{Br}_3\text{B}$ , un potente agente desmetilante, que actúa a bajas temperaturas ( $-80^\circ\text{C}$ ), y que ha sido utilizado con éxito por algunos autores (72) para eliminar grupos protectores de la tiroxina y otros aminoácidos; pero que al emplearlo frente a nuestros compuestos, si bien se logró la desmetilación deseada, también se rompió el anillo de ciclopropano, resultando  $\gamma$ -butirolactonas, cuya estructura se discutirá en la parte de hidrólisis ácidas (pg.72).

A la vista de los resultados obtenidos, se volvió sobre las hidrólisis básicas de los espiroderivados (LX) (esq. IX, pg. 56) en los que R es un grupo acetoxilo.

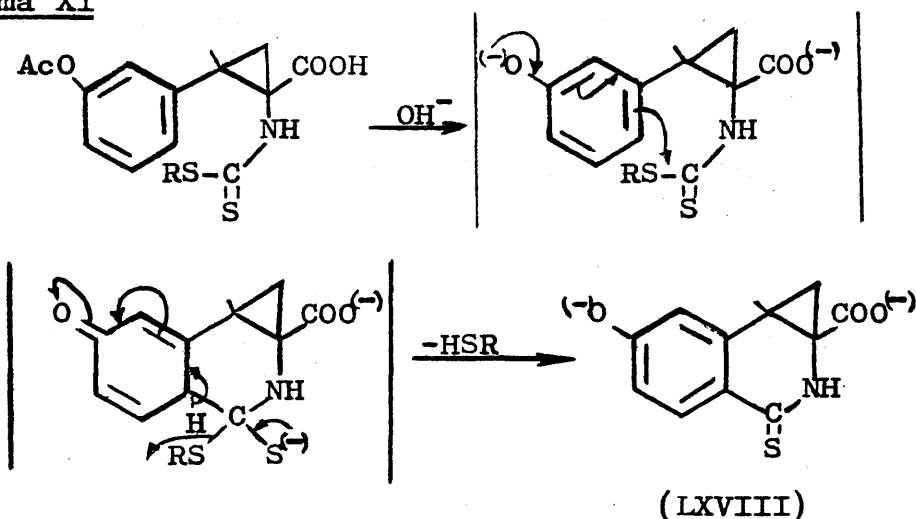
Las hidrólisis se hicieron ahora en fuerte corriente de nitrógeno, para evitar en lo posible la oxidación de los hidroxiderivados formados, acidulando posteriormente el medio de reacción y separando el hidrocioruro formado por extracción con etanol.

Según este método, se obtuvieron los hidrocioruros de los aminoácidos de fórmula general (I) (esq. IX, pg. 55) en los que  $\text{R} = 3\text{-OH}; 4\text{-OH}; 3\text{-OH}, 4\text{-OCH}_3; 4\text{-OH}, 3\text{-OCH}_3$ , productos todos ellos muy higroscópicos y de fácil oxidación al aire.

Los rendimientos en la obtención de estos compuestos son del orden del 50% para los 4-hidroxiderivados, pero son menores, del orden del 30%, para los 3-hidroxiderivados. Este menor rendimiento se debe a la formación, en el caso de los 3-hidroxiderivados, de unos compuestos secundarios de estructura isoquinoleínica (LXVIII); producidos por ciclación, como se ha demostrado por técnicas de RMN, IR, masas y análisis elemental. La formación de estos compuestos es debida probablemente a la activación de la posición 4 del anillo bencénico por el grupo hidroxilo en la posición 3.

Un ejemplo característico es el que se da en el esquema siguiente:

Esquema XI

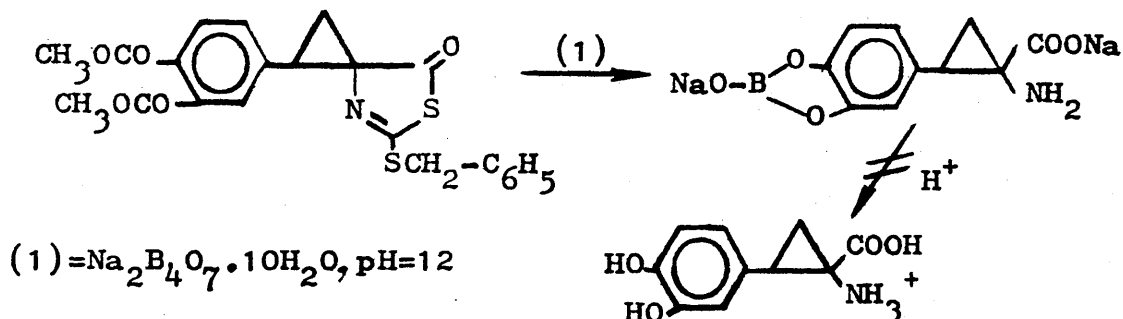


e) Intentos de obtención del ácido 1-amino-2-(3,4-dihydroxifenil)-ciclopropanocarboxílico

Dada la gran susceptibilidad a la oxidación que los grupos hidroxilo del anillo bencénico en las posiciones 3 y 4 confieren a la molécula, éste aminoácido de estructura catecólica no ha logrado obtenerse por el método usado para la preparación de los hidroccloruros de los hidroxiaril-ciclopropil-aminoácidos. Si bien, en una ocasión, en la hidrólisis básica del correspondiente diacetoxiespiroderivado y bajo fuerte corriente de nitrógeno, logró detectarse su aparente presencia, por medio de su espectro de RMN, pero no disponemos de datos suficientes que nos permitan demostrar fehacientemente su estructura.

Por ello, se pensó en la protección frente al medio básico fuerte. Dado que en la hidrólisis de la 1-fenil-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona con tampón bórico-borato a pH=12 en medio dioxano-agua, se obtuvo el correspondiente aminoácido ((I), R=H), se intentó hacer lo mismo con la 1-(3,4-diacetoxifenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona, en cuya hidrólisis teóricamente debería de formarse un producto intermedio de boro (70) que protegería al cate-

col frente a la oxidación en medio básico y que se destruiría al acidular:



Sin embargo, el éxito no acompañó estos intentos.

También se intentó la preparación de dicho aminoácido a partir del 3,4-metilendioxi-fenil-ciclopropilaminoácido, hidrolizando el éter metilénico con  $\text{BrH-AcH}$ . En esta ocasión - se rompió el anillo de ciclopropano, manteniéndose, sin embargo, intacto el grupo éter.

El tratamiento con  $\text{Br}_3\text{B}$ , abordado con el mismo objeto de desmetilación, condujo a residuos negruzcos intratables, debidos posiblemente a la oxidación del catecol libre.

### 3.-.Hidrocloruros de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropano-carboxílicos

Los hidrocloruros de los ciclopropilaminoácidos se prepararon sin dificultad, por tratamiento de los mismos con etanol-clorhídrico, o directamente acidulando la disal potásica - ((LXIV), esq. VIII, pg. 54, ó (LXV), esq. IX, pg. 55), obtenida en la hidrólisis básica de los espiroderivados.

En el caso del compuesto (I) en el que  $\text{R}=\text{4-OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ , no logró obtenerse el correspondiente hidrocloruro por ningún método, resultando el supuesto aminoácido extremadamente insoluble en medio ácido; anomalía ésta que nos hizo pensar en otra posible estructura distinta a la de (I), pero que no se pudo confirmar ni a través del estudio de su espectro RMN, ni del de

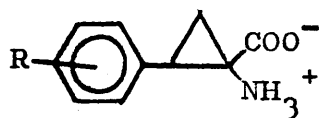
masas comparado con el de otros compuestos de la serie.

Todos los hidrocioruros obtenidos, son solubles en agua fría excepto el 4-Cl, que lo es muy poco en frío, pero totalmente en caliente. Esta solubilidad en agua a temperatura ambiente es de gran importancia para nosotros, pues evita complicaciones a la hora de medir la actividad biológica de estos compuestos frente a la descarboxilasa de aminoácidos aromáticos, como se verá en la parte IV de esta memoria.

La descripción de estos compuestos se da en la tabla IX de la parte experimental III y sus estructuras fueron demostradas por técnicas de análisis elemental, espectros IR y RMN.

#### 4.- Espectros IR de los ácidos 1-amino-2-aryl-ciclopropanocarboxílicos y de sus correspondientes hidrocioruros

Los espectros IR de los aminoácidos libres, presentan las típicas bandas anchas, entre  $3500-3000\text{ cm}^{-1}$  y entre  $1600-1500\text{ cm}^{-1}$ , correspondientes a los grupos amino y carboxilo del aminoácido en su forma zwitteriónica:

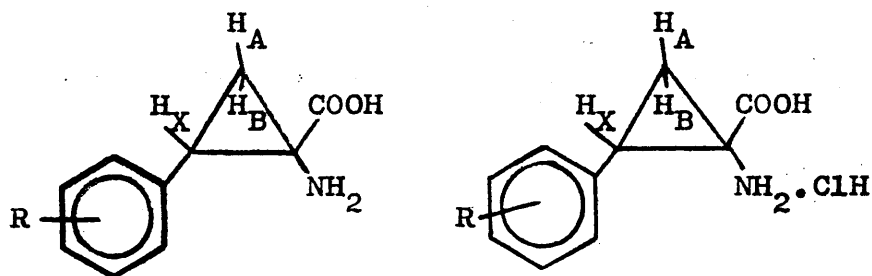


Sin embargo, en los hidrocioruros desaparece la banda ancha entre  $1600-1500\text{ cm}^{-1}$ , correspondiente al grupo carboxilo ionizado de los aminoácidos, apareciendo una clara banda de absorción carbonílica hacia  $1750\text{ cm}^{-1}$ .

Los valores individuales para estos compuestos se dan en las tablas VII y X para los aminoácidos y sus hidrocioruros respectivamente.

#### 5.- Espectros RMN de los ácidos 1-amino-2-aryl-ciclopropanocarboxílicos y de sus correspondientes hidrocioruros

En los aminoácidos libres, los tres protones del anillo de



ciclopropanose resuelven como un sistema ABX en el que a cada protón le corresponde un claro cuádruplete, siendo los desplazamientos químicos del orden de  $\delta=2.6-2.7$  para el protón X,  $\delta=1.6-1.7$  para el protón A y de  $\delta=1.2-1.3$  para el B. Las constantes de acoplamiento no varían apreciablemente con el tipo de sustituyente R, siendo del orden de 9.3 Hz para  $J_{BX}$ , de 7.3 Hz para  $J_{AX}$  y de -5.3 Hz para la geminal.

En el caso de  $R=4-OCH_2C_6H_5$ , hay una anomalía en cuanto al desplazamiento químico del protón B, que aparece a  $\delta=0.91$  - mientras que en los demás aminoácidos de la serie aparecía hacia  $\delta=1.3$ .

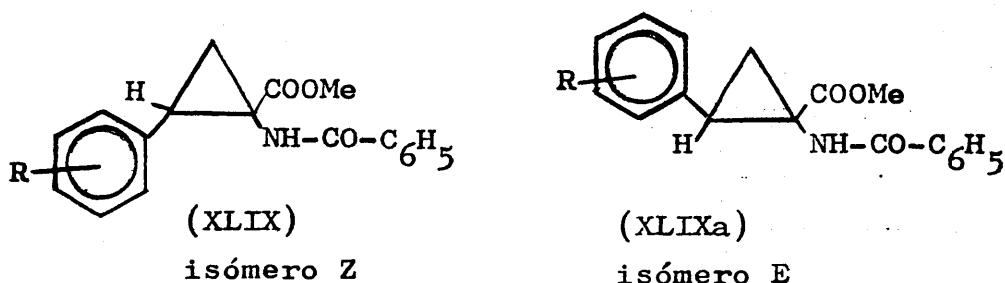
En los hidroclocluros de los aminoácidos, los tres protones del anillo de ciclopropano se resuelven como un sistema ABX, - apareciendo la parte AB como un multiplete entre  $\delta=1.9$  y 2.0, y el protón X como un triplete hacia  $\delta=3.2$ . El sistema se ha resuelto teóricamente para algún caso, resultando unas constantes de acoplamiento del orden de 6.6 Hz para la geminal y de 9.7 y 8.8 Hz para las vecinales.

Los valores individuales de los desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento para los aminoácidos y sus hidroclocluros se dan en las tablas VIII y IX respectivamente.

## 6.- Estereoquímica

La estereoquímica de los ácidos 1-amino-2-aryl-ciclopropa-

nocarboxílico se ha demostrado como Z de forma inequívoca para dos de los productos preparados. El camino para ello fué - el siguiente: Trabajos en curso en nuestros laboratorios han permitido obtener inequívocamente y vía oxazolonas los ésteres metílicos de los ácidos Z y E 1-benzamido-2-aril-ciclopropancarboxílicos, de fórmulas (XLIX) y (XLIXa) respectivamente:



Cuando dos de los aminoácidos obtenidos por nosotros (R=H y R=4-OCH<sub>3</sub>) se sometieron sucesivamente a benzoilación y posterior esterificación, dieron exactamente los mismos productos isómeros Z, que los obtenidos por el método inequívoco anteriormente comentado. Esto prueba sin lugar a dudas su configuración Z (trans arilo-carbometoxilo). (ver pgs. 35 y 50).

Por otra parte, ya comentamos en páginas anteriores que en la hidrólisis de 3-acetoxifenil-espiroderivados para obtener el 3-(hidroxifenil)-ciclopropilaminoácido, junto con el producto deseado se obtenía un derivado de isoquinoleína (esq. XI pg. 59), de estructura bien demostrada, y cuya formación solo es explicable sobre la base de una configuración Z para los productos. Esto constituye una prueba química indirecta de que los productos que veníamos obteniendo tienen configuración Z.

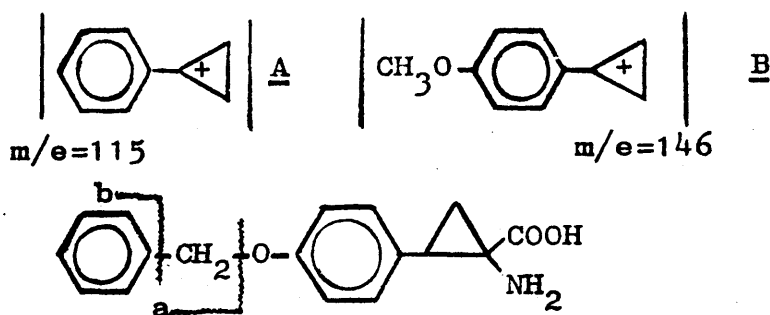
No se nos escapa, no obstante, la posibilidad aunque remota de que este último caso se tratase de una mezcla de isómeros Z y E, y de cuya mezcla, el isómero Z, en la hidrólisis, da se el producto cíclico de estructura isoquinoleínica (LVIII), mientras que el isómero E, incapaz de sufrir aquella ciclación, diese lugar al ciclopropilaminoácido obtenido. No obstante, -

esta posibilidad es descartable pues los espectros RMN, en particular de los intermediarios de la síntesis, no dejan lugar a dudas de que en cada caso se está trabajando con un solo isómero, que por todo lo dicho hasta aquí es el Z.

7.- Espectros de masas de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos

Con el fin de explicar la estructura del supuesto aminoácido (I)  $R=4-OCH_2C_6H_5$ , y no siendo concluyentes los datos de espectroscopía de IR y RMN, se llevó a cabo un estudio de su espectro de masas comparado con el de otros aminoácidos de la serie, escogiéndose para ello, uno sin sustituir en el núcleo bencénico y otro 4-sustituído ( $4-OCH_3$ ).

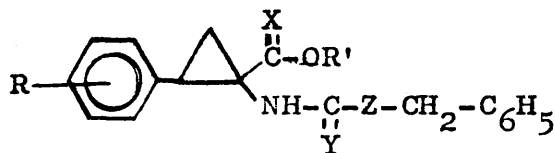
Los picos principales que aparecen en los aminoácidos con  $R=H$  y  $R=4-OCH_3$ , son los correspondientes a la pérdida de  $CO_2$  y  $CO_2H$ , seguidos en orden de intensidad por los iones A, para  $R=H$  y B para  $R=4-OCH_3$ , apareciendo con menos intensidad el  $M^+-18$  correspondiente a la pérdida de agua por el ión molecular.



En el caso de  $R=4-OCH_2C_6H_5$ , aparece como pico más intenso el correspondiente al fragmento de la ruptura por a,  $m/e=91$  (ión tropilio), encontrándose también el correspondiente a la ruptura por b. Los picos correspondientes a la pérdida de  $CO_2$ ,  $CO_2H$ , y  $H_2O$  por el ión molecular también aparecen en este caso, aunque con muy poca intensidad. Lo más sorprendente es la

presencia de un pico  $m/e=146$  muy intenso, que si tratamos de relacionarlo con los demás elementos de la serie correspondería al ión B, estando la carga en este caso sobre el grupo metoxilo debido a la pérdida del grupo fenilo, de donde se deduce que su formación tuvo que transcurrir por un camino diferente al de los aminoácidos en que  $R=H$  y  $R=4-OCH_3$ , y para el cual nosotros no encontramos explicación.

8.- Discusión de los espectros IR de los productos de apertura del anillo de tiazolona y de sus derivados desulfurados

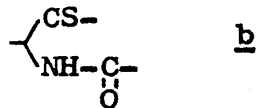
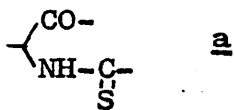


En los espectros IR de los productos desulfurados de los compuestos de apertura del anillo de tiazolona en la serie de los benciloxi-espiroderivados ( $X=Y=Z=O$ ) (ver pg. 52) aparecen claramente dos absorciones carbonílicas, una debida al  $C=O$  de ácido hacia  $1710\text{ cm}^{-1}$  o de éster hacia  $1740\text{ cm}^{-1}$  y otra debida al enlace  $C=O$  amídico hacia  $1665-1700\text{ cm}^{-1}$ . Otra banda característica de estos compuestos es la de tensión del  $N-H$  hacia  $3300\text{ cm}^{-1}$ .

Inexplicablemente, los espectros IR de las supuestas mezclas de productos ( $Z=S$  ó  $Z=O$ ,  $X=O$   $Y=S$ ,  $X=S$   $Y=O$ ), a que hicimos referencia en las pgs. 52 y 56, presentan una única banda de absorción carbonílica hacia  $1720\text{ cm}^{-1}$ , apareciendo por otro lado la tensión del enlace  $N-H$  hacia  $3220\text{ cm}^{-1}$ .

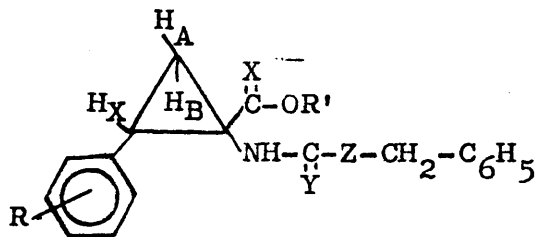
A este hecho, en abierta contradicción con lo que se deduce de los espectros de RMN, como luego veremos, no hemos encontrado explicación plausible, a no ser que se die-

ra la poca probable coincidencia de que ambas absorciones carbonílicas a y b ocurrieran a la misma frecuencia.



No hemos hallado antecedentes bibliográficos que justifiquen estos hechos.

9.- Discusión de los espectros RMN de los productos de apertura del anillo de tiazolona y de los correspondientes derivados desulfurados



En los benciloxiderivados ( $Z=O$ ) el espectro de RMN es muy complicado, apareciendo: dos tipos de  $O-CH_2$ , que nos hace pensar en una mezcla  $-CO-OCH_2$  y  $-CS-OCH_2$ ; un complejo sistema ABX, presentando la parte AB 16 bandas, lo cual parece apuntar a dos tipos de sistemas ABX; cuando se trata de un éster ( $R'=CH_3$  ó  $R'=CH_2-CH_3$ ) aparecen dos tipos de grupos etilo o metilo con unos desplazamientos químicos muy parecidos, lo que correspondería a una mezcla  $-CO-OR'$  y  $CS-OR'$ .

En los benciloxiderivados ( $Z=O$ ) desulfurados ( $X=Y=O$ ), el espectro se simplifica enormemente, dando una banda única para los protones del grupo  $CH_2-O$ ; un único tipo de  $R'$  y un sistema ABX muy sencillo para los tres protones del anillo de ciclopropano, similar al presentado por los

espiroderivados.

En el espectro RMN de los benciltióderivados ( $Z=S$ ), el sistema ABX formado por los tres protones del anillo de ciclopropano, se resuelve como un sistema AMX, similar al presentado por los aminoácidos, cuyos multipletes, mal resueltos y de bandas redondeadas, así como la anchura del pico correspondiente a los protones del grupo  $CH_2-S$ , nos hace pensar que se trata de una mezcla de  $CO-S-CH_2$  y  $CS-S-CH_2$ .

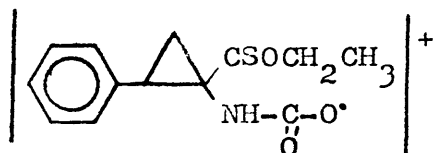
Los valores individuales para cada compuesto se dan en la tabla XIV de la Parte III.

10.- Discusión de los espectros de masas de los productos de apertura del anillo de tiazolona.

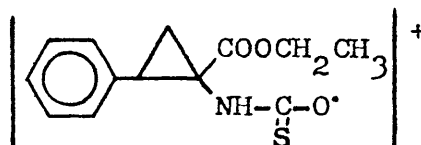
Dado que el espectro IR de la supuesta mezcla de productos ((XXXIX) + (XL), esq. VI pg. 52 ó (XLIV) + (XLV), esq. IX pg. 56), resultaba incompatible con la misma, se escogió uno de ellos para estudiar su espectro de masas, el éster etílico de ((XXXIX) + (XL)), por ser la que presentaba un espectro RMN más complejo.

En el espectro de masas de la mezcla elegida no aparece el ión molecular, sino un pico de  $m/e=264$  que corresponde a la pérdida del grupo  $-CH_2-C_6H_5$ , lo que queda confirmado por la aparición en el espectro de otro pico de gran intensidad a  $m/e=91$  (ión tropilio).

En el supuesto de que existiera la mezcla como tal, se formarían los dos iones A y B:



(A)



(B)

Para ver los picos que provendrían de claras transposiciones o claros reagrupamientos, se registró el espectro a 60eV. Los picos más importantes que aparecieron fueron los siguientes:

m/e=247 (264-OH) confirmado por  $m^* = 230.8$   
m/e=204 (264-CSO) confirmado por  $m^* = 157.6$   
m/e=174 (247-72) confirmado por  $m^* = 122$  ó  $125$   
m/e=175 (204-C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) confirmado por  $m^* = 149$

Esta última pérdida de C<sub>2</sub>H<sub>5</sub> es poco corriente en ésteres etílicos, pero esta descrito para un compuesto similar - como es el éster etílico de la fenilalanina (67).

A través de la presencia de estos picos, se puede decir que existe el ión B, pero no así el A.

Cuando el espectro se registró a 10eV, aparecieron, además de los picos que podría explicar la estructura B, - otros de menor intensidad que podrían explicar la A, tales como:

m/e=232 (264-S) confirmado por  $m^* = 202$  ó  $205$   
m/e=188 (264-CO<sub>2</sub>) confirmado por  $m^* = 152$   
m/e=187 (232-CO<sub>2</sub>H)

A la vista de estos espectros, no podemos sacar datos concluyentes, sobre todo, si tenemos en cuenta que este tipo de compuestos sufre fácilmente transposiciones del grupo -CS-O- a -CO-S-, en cuyo caso la interpretación de los picos sería errónea.

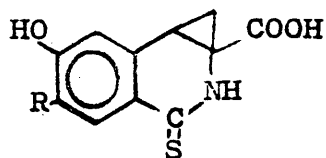
#### 11.- Espectros IR de los ácidos 1-tiocarbonil-3,4-metilén-tetrahidroisoquinoleín-3-carboxílicos

Los espectros IR de estos compuestos presentan una banda muy intensa hacia 1700 cm<sup>-1</sup> debida a una absorción car-

---

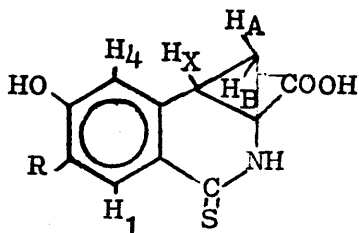
$m^*$  = pico metaestable

bonífica. Hacia  $3280\text{ cm}^{-1}$  aparece una banda debida a la



tensión del enlace N-H tioamídico. En la zona comprendida entre  $1450-1600\text{ cm}^{-1}$  aparecen varias bandas muy intensas, de las cuales alguna podría corresponder a absorción del grupo -CS-NH-.

12.- Espectros RMN de los ácidos 1-tiocarbonil-3,4-metilén-tetrahidroisquinoleín-3-carboxílicos



La formación de estos compuestos de ciclación, se demuestra claramente por la desaparición del protón en p - con respecto al OH, simplificándose la zona de los protones aromáticos; así, cuando  $R=OCH_3$ , aparecen dos singletes, uno por cada protón aromático; y en el caso de  $R=H$  aparece un doblete a  $\delta=8.58$ , correspondiente al protón  $H_1$ , que se encuentra desdoblado por el vecinal con una constante de acoplamiento de  $8.6\text{Hz}$ , el cual a su vez aparece como un cuartete a  $\delta=6.83$ , desdoblado por el  $H_1$  con una constante de  $8.6\text{Hz}$  y por el  $H_4$  con una  $J=3\text{Hz}$ .

El sistema de protones del anillo de ciclopropano aparece aquí resuelto como un sistema AMX, similar al de los aminoácidos libres. Los protones X y A aparecen a valores de  $\delta=3.0$  y  $\delta=2.0$  respectivamente, mientras que el protón B aparece a  $\delta=0.7$ , valor más bajo que el presentado por los aminoácidos libres, posiblemente debido a la

influencia del grupo C=S y sobre todo a la corriente de anillo del núcleo aromático.

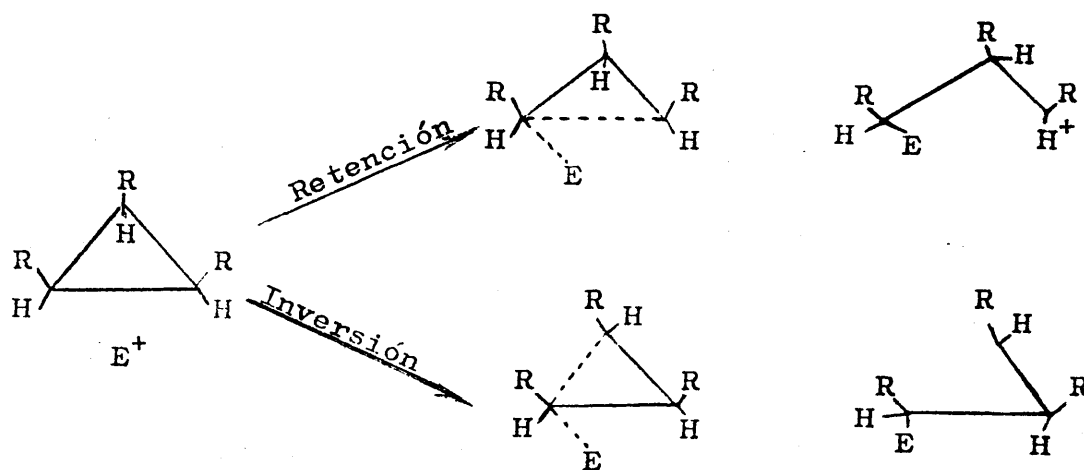
Las constantes de acoplamiento para este sistema, son del orden de -4.6 Hz para la geminal y de 6.6-9.6 para las vecinales.

Los valores individuales de  $\delta$  y J para cada compuesto, se dan en la parte III (pgs. 115 y 117).

IV. TRATAMIENTO CON ACIDOS DE LAS 2-ARIL-5-BENCILOXI(ó benciltío)-6-TIO-4-AZA-ESPIRO-(2,4)HEPT-4-EN-7-ONAS Y DE LOS ACIDOS 1-AMINO-2-ARIL-CICLOPROPANOCARBOXILICOS

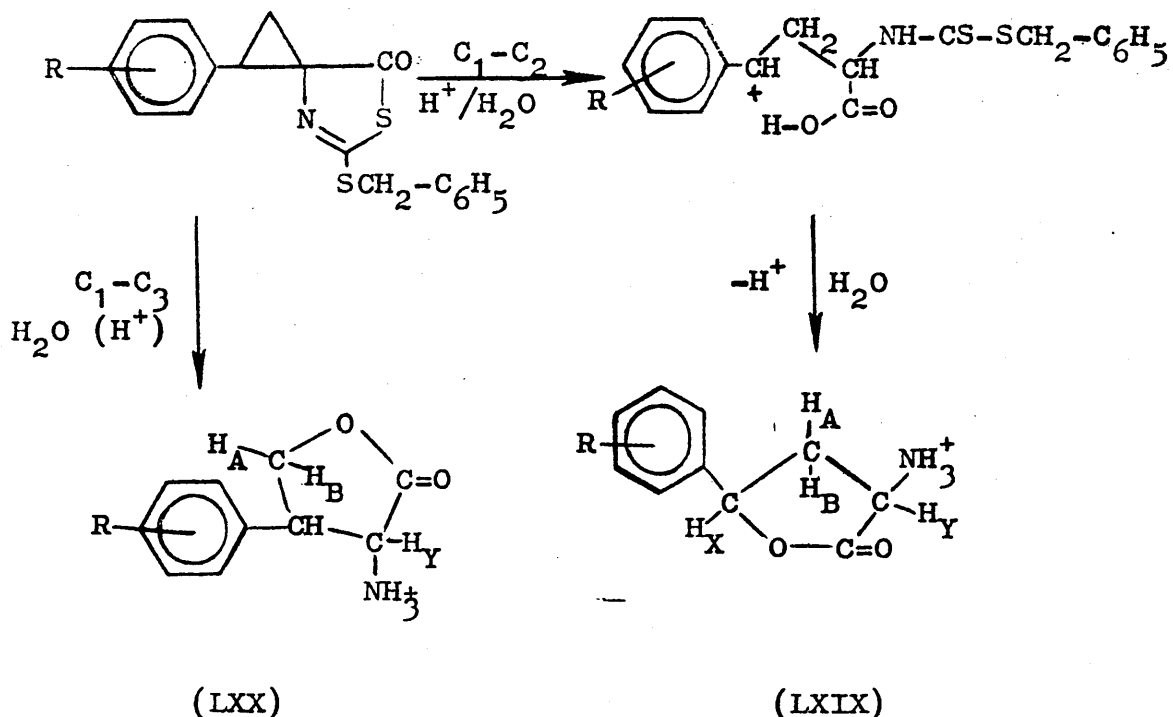
En el anillo de ciclopropano la facilidad de ruptura de un enlace C-C por el ataque electrófilo de un ácido, depende de los sustituyentes sobre el anillo.

El ataque por reactivos electrófilos tiene lugar, bien con inversión, o con retención de la configuración del átomo de carbono al cual ataca el electrófilo, siendo el mecanismo más sencillo el siguiente (58):



En nuestros compuestos es muy distinta la labilidad del anillo de ciclopropano frente a los ácidos en los aminoácidos libres y en los demás espiroderivados. Así, mientras el anillo de ciclopropano se mantiene intacto cuando se trata el ácido 1-amino-2-fenil-ciclopropanocarboxílico con HCl caliente, en la 2-fenil-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona en el mismo tratamiento el anillo de ciclopropano se abre.

La ruptura puede ocurrir entre los átomos C<sub>1</sub> y C<sub>2</sub> o entre C<sub>1</sub> y C<sub>3</sub>, según el esquema siguiente:



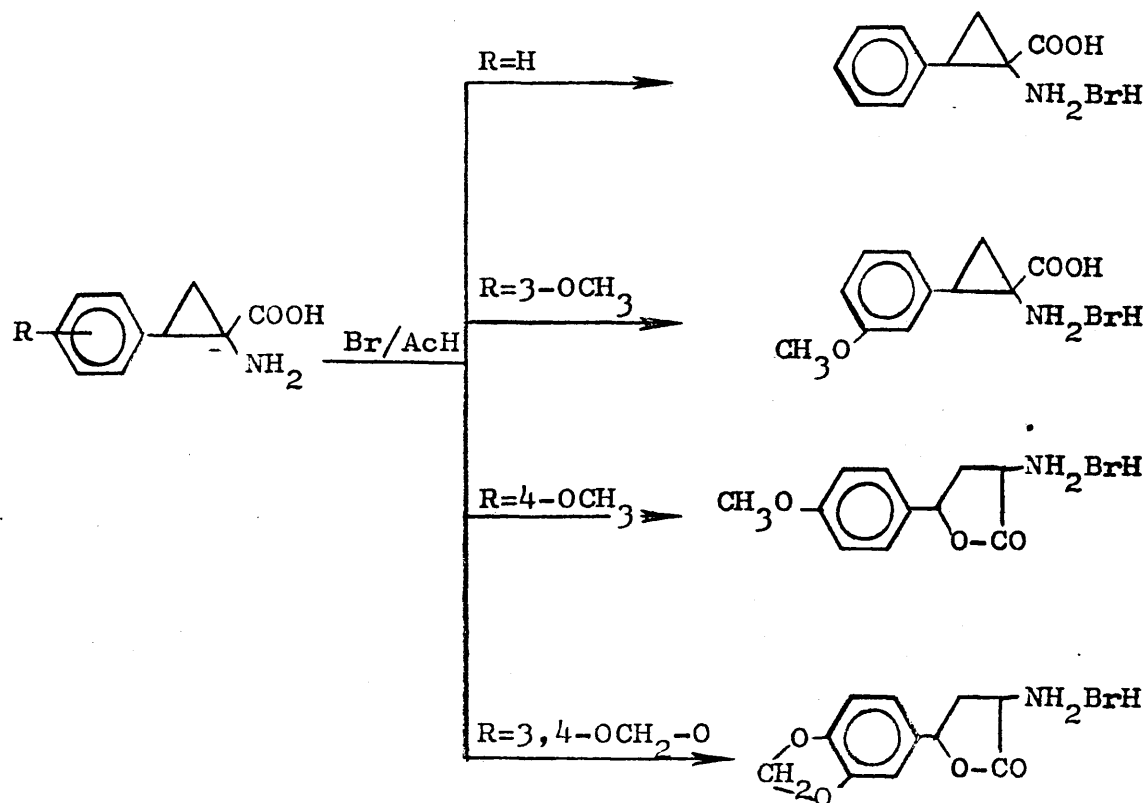
La decisión entre ambas alternativas se llevó a cabo por el estudio RMN de los productos obtenidos. Comparando las dos estructuras (LXIX) y (LXX), se ve claramente que los protones X, A y B han de tener valores de  $\delta$  diferentes en una y otra, ya que los grupos vecinales en cada una de ellas son distintos. Los desplazamientos químicos para el compuesto obtenido, coinciden con los calculados para la estructura (LXIX), y coincide exactamente con el compuesto obtenido anteriormente en nuestro grupo de trabajo en la hidrólisis ácida de la 1-fenil-ciclopropano-1-espiro-4-(2-fenil-oxazolona) como ya se ha comentado en la página 21 (36).

1.- Tratamiento con BrH/AcH de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos

Como ya expusimos en la página 58, este tratamiento se

hizo con el objeto de obtener información sobre la estabilidad de estas estructuras frente al reactivo BrH/AcH, con el fin de poder aplicarlo a los metoxiderivados, y obtener por desmetilación los compuestos hidroxiarilderivados.

Cuando se trataba el 1-amino-2-fenil-ciclopropilaminoácido con BrH/AcH el anillo de ciclopropano se mantenía intacto, lo mismo ocurría cuando el anillo bencénico tenía en 3 un grupo metoxilo, pero no ocurría así cuando el grupo metoxilo estaba en la posición 4 o cuando en las posiciones 3,4 había un grupo metiléndioxi en cuyo caso se rompía el anillo de ciclopropano, resultando estructuras del tipo (LXIX), como se muestra en el esquema siguiente:

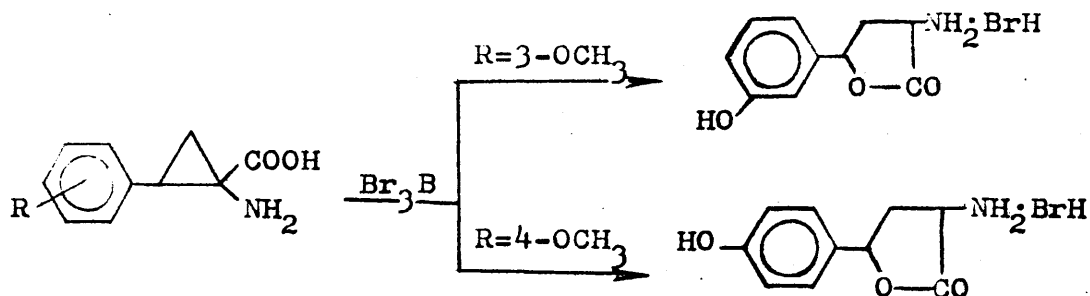


Estas diferencias en cuanto a la labilidad del anillo de ciclopropano según el sustituyente sobre un núcleo bencénico, han sido también encontradas por otros autores, - sobre estructuras diferentes a las consideradas por nosotros, y parecen estar relacionadas con la facilidad para protonarse el anillo de ciclopropano (59).

2.- Tratamiento con Br<sub>3</sub>B de los ácidos 1-amino-2-aryl-ciclopropanocarboxílicos

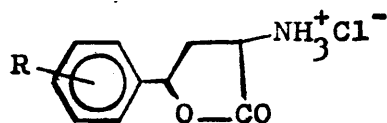
Al igual que el tratamiento con BrH/AcH, este se abordó con el propósito de desmetilar los aminoácidos con sustituyentes metoxilo en el núcleo bencénico. En este caso, se logró la desmetilación, pero también se abrió el anillo de ciclopropano, no pudiendo llegarse a los ciclopropilaminoácidos con grupos OH en el núcleo bencénico, como era deseable. Los resultados obtenidos se resumen en el - esquema XIII

Esquema XIII



Las  $\gamma$ -butirolactonas de estructura (LXIX) habían sido descritas por nuestro grupo de trabajo (36), siendo nuevas aquellas en las que R= 4-OH; 3-OH; 3,4-OCH<sub>2</sub>O-. Sus estructuras se han determinado por las técnicas usuales de análisis elemental y espectros RMN e IR.

3.- Espectros IR de los hidroccloruros de 2-amino-4-aryl- $\gamma$ -butirolactonas

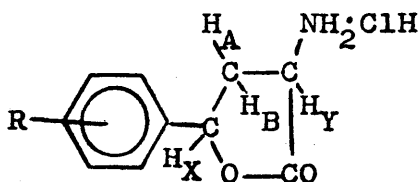


En estos compuestos lo más característico es la absorción del enlace C=O lactónico que aparece como una banda intensa hacia  $1800\text{ cm}^{-1}$ , en algunos casos desdoblada en dos, a  $1800$  y  $1785\text{ cm}^{-1}$ , debido posiblemente a dos modos de vibración distintos del enlace C=O.

Las vibraciones de tensión del grupo amonio aparecen como dos bandas anchas entre  $2390\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$  y entre  $3400\text{-}3500\text{ cm}^{-1}$ .

Los valores individuales para cada compuesto se dan en la tabla XVI de la parte III.

4.- Espectros RMN de los hidroccloruros de 2-amino-4-aryl- $\gamma$ -butirolactonas



En estos productos, los protones X e Y aparecen como cuartetos, ya que están desdoblados por sus protones vecinales A y B, siendo los desplazamientos químicos del orden de  $\delta=5.6$  para el X y de  $\delta=4.6$  para el Y.

Los protones A y B aparecen como multipletes, ya que cada uno de ellos está desdoblado por el otro y por los protones X e Y. Los desplazamientos químicos son del orden

de  $\delta = 3.0$  para el protón A y de  $\delta = 2.5$  para el B.

Las constantes de acoplamiento se han calculado en al gún caso, para lo que hubo que hacer el espectro en  $D_2O$  y  $(CD_3)_2SO$ , ya que la señal del agua enmascaraba al protón Y, encontrándose los siguientes valores;  $J_{XB} = 10.6$  Hz;  $J_{XA} = 5.3$  Hz;  $J_{YB} = 12$  Hz;  $J_{YA} = 8.6$  Hz;  $J_{AB} = -13$  Hz.

Los valores individuales de los desplazamientos químicos y constantes para cada caso se dan en la tabla XVII de la parte III.

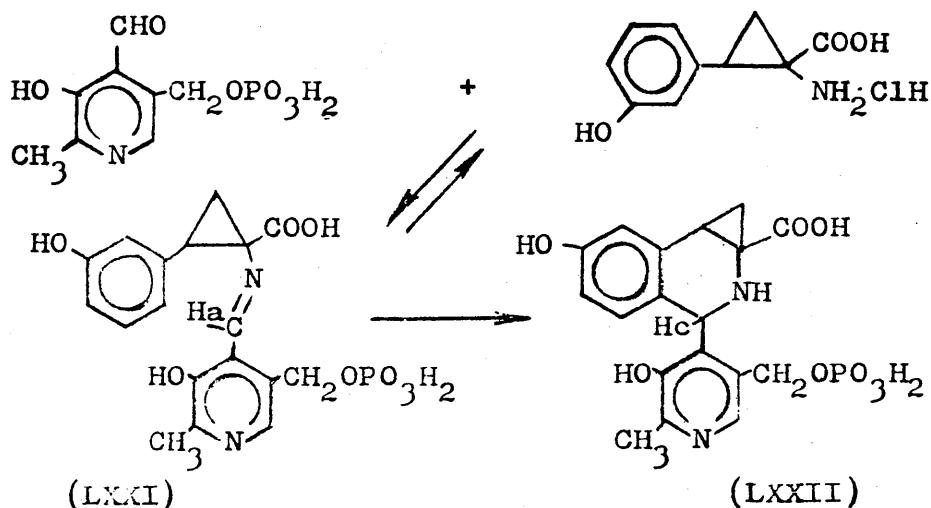
V. CONDENSACION DEL HIDROCLORURO DE 1-AMINO-2-(3-HIDROXI-FENIL)-CICLOPROPANOCARBOXILICO CON FOSFATO DE PIRIDOXAL

Es conocido que durante el proceso de catálisis por enzimas dependientes de fosfato de piridoxal (P-5'-P) se forman las bases de Schiff por condensación de aminoácidos y (P-5'-P) como productos de una reacción covalente intermedia en dicho proceso (60) (61).

Nosotros, con el fin de poder explicar el mecanismo por el que transcurriría el proceso de inhibición enzimática (véase pg.238, parte IV) decidimos estudiar los productos que se formaban en la condensación de los aril-ciclopropilaminoácidos con el (P-5'-P), para lo cual escogimos el hidrocloreuro de 1-amino-2-(3-hidroxifenil)-ciclopropanocarboxílico, por ser el que utilizamos en las experiencias enzimáticas, (para las experiencias en detalle ver páginas 230, 231 y 232).

Con el fin de obtener la posible base de Schiff, llevamos a cabo la condensación del aminoácido indicado y (P-5'-P) en medio etanólico a temperatura ambiente con la cantidad estequiométrica de potasa. Los resultados se esquematizan a continuación:

Esquema XIV



En esta reacción se obtuvieron dos productos: la supuesta base de Schiff (LXXI) y otro en muy pequeña proporción (LXXII). A la vista de su confuso espectro RMN, mezcla de (LXXI) y (LXXII), pensamos que este segundo compuesto podría ser un análogo al formado en la ciclación espontánea de la 3-hidroxitirosina con (P-5'-P), descrito por varios autores (62), y cuya síntesis también estaba descrita; así pues, hicimos lo mismo en nuestro caso.

Llevamos a cabo la reacción a pH=7 en medio acuoso en caliente, obteniendo como producto único el ácido 1-(4'-piridoxil-5'-fosfato)-3,4-metilén-(6-hidroxi-tetrahidroisquinoleín)-3-carboxílico (LXXII), cuya estructura se ha determinado por el estudio de su espectro de RMN en el cual aparece un sistema AMX similar al presentado por los aminoácidos libres con unos desplazamientos químicos y constantes de acoplamiento muy parecidos, por lo cual concluimos que se conserva el anillo de ciclopropano.

El valor para el desplazamiento químico del protón C a  $\delta=6.4$  concuerda con el de compuestos similares descritos en la bibliografía (52).

La estructura de la supuesta base de Schiff (LXXI) es muy difícil de determinar, utilizando las técnicas normalmente empleadas por nosotros, ya que continuamente se está transformando en el producto cíclico (LXXII) por una parte, e hidrolizándose por otra a los productos de partida. Su presencia se demuestra por la desaparición del protón aldehídico del (P-5'-P) y la aparición a  $\delta=8.0$  de la señal correspondiente a  $H_a$ .

Las estructuras de estos productos de condensación con (P-5'-P) solo se ofrecen como probables, ya que carecemos de datos concluyentes que nos permitan una identificación inequívoca. Por otra parte, en esta fase del trabajo, nos interesa fundamentalmente saber si de alguna forma (reversible o irreversiblemente) nuestros productos interaccio-

nan con el (P-5'-P).

De todos modos, estos productos serán objeto de un -  
más detallado estudio en trabajos posteriores.

PARTE III

SINTESIS DE ACIDOS 1-AMINO-2-ARIL-CICLOPROPANOCARBOXILICOS  
Y DERIVADOS

A- RESULTADOS EXPERIMENTALES

## TECNICAS GENERALES

Los puntos de fusión se han determinado en tubo capilar en un bloque Gallenkamp (Inglaterra) y están corregidos.

Los análisis se refieren a microanálisis realizados sobre muestras secas a vacío (0.1-1 mmHg) durante 2-3 horas sobre pentóxido de fósforo, a 60-80°C salvo fusión o descomposición a temperatura más baja.

Los espectros IR se registraron en un aparato Perkin-Elmer 137E en pastilla de BrK, y las frecuencias se dan en  $\text{cm}^{-1}$ . Abreviaturas: f=fuerte; m=media; d=debil; b.a.=banda ancha; v.b=varias bandas.

Los espectros RMN se registraron en un aparato Perkin-Elmer R-12 (60Mc) con TMS o DDS como referencia interna, según que el producto se registre disuelto en cloroformo o agua, respectivamente. Las muestras fueron de unos 60 mg de producto seco por 0.6 ml de disolvente. Algunos espectros se registraron en un aparato Varian XL 100 con TMS - como referencia interna. Abreviaturas: s=singlete; d=doble te; t=triple te; c=cuartete; m=multiplete;  $S_a$ =señal ancha; s.d.=singlete deformado; d.d.=doble te deformado; t.d.=triple te deformado; c.d.=cuartete deformado.

Los espectros de masas se registraron en un aparato Perkin-Elmer modelo RMU-6MG.

En las experiencias cromatográficas se empleo gel de sílice GF<sub>254</sub> para la cromatografía en capa fina y gel de sílice 60 PF<sub>254</sub> para la cromatografía en capa preparativa. Las placas finas se prepararon sobre placas de vidrio con una papilla de 25 g de gel de sílice y 55 ml de agua, con un preparador Desaga y se secaron durante 30 minutos a 80°C. Las preparativas se hicieron sobre placas de vidrio con una papilla de 25 g de gel de sílice y 250 ml de agua, también con un preparador Desaga y se secaron al aire. Las placas, después de desarrollada la cromatografía como se indicará

en cada caso, se revelaron bajo luz ultravioleta a  $\lambda$  254  
y  $\lambda$  350  $m\mu$ .

I. PREPARACION DE 2-BENCILTIO(6 benciloxi)-4-ARILIDEN-  
-5(4H)-TIAZOLONAS

1.- N-bencilditiocarbonilglicina (43)

A 23.3 g (0.41 moles) de KOH, disueltos en 50 ml de agua se añaden 15 g (0.2 moles) de glicina. Se enfría la solución y se agita con 15.2 g (0.2 moles) de CS<sub>2</sub>, hasta que se obtiene una disolución homogénea (unas 2.5 horas) de color rojo vinoso. Se añaden de una vez 25 g (0.2 moles) de cloruro de bencilo y se continúa la agitación hasta nueva homogeneidad (45-90 min. más). Se acidula con ácido clorhídrico concentrado, y se deja en refrigerador. El precipitado obtenido, una vez filtrado y lavado con agua, se purifica disolviéndolo en una solución de NaHCO<sub>3</sub>, se filtra, y la solución de color ligeramente amarillo, se extrae dos veces con éter de petróleo y se acidula de nuevo con ácido clorhídrico. El ácido que precipita se filtra, lava con agua y se seca. El producto es lo suficientemente puro para utilizarlo en los pasos siguientes. Rendimiento (producto bruto) 30 g (62%). Puede recristalizarse de alcohol isopropílico. Agujas blancas, p.f.=163-4°C (descrito 164°C).

2.- 2-benciltio-4-arilidén-5-(4H)-tiazolonas

Procedimientos generales:

Procedimiento A

0.05 moles de N-bencilditiocarbonilglicina, 0.05 moles del correspondiente aldehído aromático y 30-50 ml de anhídrido acético, se calientan en baño de agua durante 15-20 min.. Por enfriamiento, previa concentración a vacío, si es preciso, de la mezcla de reacción, cristaliza el arilidéndoderivado, que se filtra y se lava primero con un poco de éter y luego con etanol, y se recristaliza de un disolvente apropiado.

Los rendimientos totales oscilan entre el 60 y el 30%.

#### Procedimiento B

0.052 moles del aldehído aromático, 0.05 moles de N-bencilditiocarbonilglicina y 0.05 moles de  $K_2CO_3$  anhidro se mezclan íntimamente. A la mezcla, colocada en un vaso de precipitado de 500 ml, se adicionan 30-50 ml de anhídrido acético. A los pocos minutos la masa se calienta, se hincha y colorea (entre rojo y amarillo). Se deja estar toda la noche. Al día siguiente se filtra y se lava primero con un poco de éter y luego con agua. El sólido residual se recristaliza de un disolvente apropiado. Diluyendo con agua las aguas madres es posible obtener más producto.

Los rendimientos totales oscilan entre el 50-60%.

Por alguno de estos procedimientos se han obtenido los compuestos siguientes:

#### 2-benciltío-4-bencilidén-5(4H)-tiazolona (43)

Obtenido a partir de benzaldehído por el procedimiento A. El color del producto varía entre amarillo y verde. Puro es amarillo muy pálido. Recristalizado de alcohol isopropílico con un poco de dioxano, p.f.=121-2°C (descrito -120-1°C). Rdt. 60%.

Análisis tabla I n° 1. Espectro IR, tabla II n°1. Espectro RMN, tabla III n°1.

#### 2-benciltío-4-(4-nitrobencilidén)-5(4H)-tiazolona

Preparado a partir de 4-nitrobenzaldehído por el procedimiento A. Agujas amarillas. Recristalizado de dioxano, p.f.=177-8°C. Rdt 73%.

Análisis, tabla I n°3. Espectro IR, tabla II n°3. Espectro RMN, tabla III n°3.

#### 2-benciltío-4-(4-metoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Obtenido a partir de anisaldehído por el procedimiento A. Producto amarillo canario. Recristalizado de isopropanol, p.f.=124-5°C. Rdt 52%.

Análisis, tabla I nº2. Espectro IR, tabla II nº2. Espectro RMN, tabla III nº 2.

2-benciltío-4-(4-metilbencilidén)-5(4H)-tiazolona

Preparado a partir de 4-tolualdehído por el procedimiento A. Producto verde. Recristalizado de isopropanol, p.f.=104-5°C. Rdt 45%.

Análisis, tabla I nº4. Espectro IR tabla II nº4. Espectro RMN, tabla III nº4.

2-benciltío-4-(4-clorobencilidén)-5(4H)-tiazolona

Preparado a partir de 4-clorobenzaldehído por el procedimiento A. Producto verde claro. Recristalizado de etanol-dioxano, p.f.=127-8°C. Rdt 40%.

Análisis, tabla I nº5. Espectro IR, tabla II nº5. Espectro RMN, tabla III nº5.

2-benciltío-4-(3-clorobencilidén)-5(4H)-tiazolona

Preparado a partir de 3-clorobenzaldehído por el procedimiento A. Agujas amarillas. Recristalizado de una mezcla de etanol-dioxano, p.f.=124-6°C. Rdt 37%.

Análisis, tabla I nº6. Espectro IR, tabla II nº6. Espectro RMN, tabla III nº6.

2-benciltío-4-(4-fluorobencilidén)-5(4H)-tiazolona

Preparado a partir de 4-fluorobenzaldehído por el procedimiento A. Producto amarillo verdoso. Recristalizado de isopropanol, p.f.=125-6°C. Rdt 20%.

Análisis, tabla I nº7. Espectro IR, tabla II nº7. Espectro RMN, tabla III nº7.

2-benciltío-4-(3,4-metiléndioxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Preparado a partir de piperonal por el procedimiento B. Producto verde. Recristalizado de etanol-dioxano, p.f.=162-4°C. Rdt 50%.

Análisis, tabla I nº8. Espectro IR, tabla II nº8. Espectro RMN, tabla III nº8.

2-benciltío-4-(4-acetoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Preparado a partir de 4-hidroxibenzaldehído por el procedimiento B. Producto amarillo verdoso. Recristalizado de isopropanol-dioxano, p.f.=138-9°C. Rdt 50%.

Análisis, tabla I n°9. Espectro IR, tabla II n°9. Espectro RMN, tabla III n°9.

2-benciltío-4-(4-hidroxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Preparado a partir de 4-hidroxibenzaldehído por el procedimiento A. Producto verde oscuro. Recristalizado de isopropanol-dioxano, p.f.=189-90°C.

Análisis, tabla I n°29. Espectro IR, tabla II n°29.

2-benciltío-4-(3-acetoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Preparado a partir del 3-hidroxibenzaldehído por el procedimiento B. Agujas amarillas. Recristalizado de etanol-dioxano, p.f.=134-5°C. Rdt 53%.

Análisis, tabla I n°10. Espectro IR, tabla II n°10. Espectro RMN, tabla III n°10.

2-benciltío-4-(3-acetoxi-4-metoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Preparado a partir de isovainillina por el procedimiento B. Producto amarillo verdoso. Recristalizado de dioxano, p.f.=163-4°C. Rdt 47%.

Análisis, tabla I n°11. Espectro IR, tabla II n°11. Espectro RMN, tabla III n°11.

2-benciltío-4-(3-metoxi-4acetoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Preparado a partir de vainillina por el procedimiento B. Producto amarillo verdoso. Recristalizado de etanol-dioxano, p.f.=103-4°C. Rdt 60%.

Análisis, tabla I n°12. Espectro IR, tabla II n°12. Espectro RMN, tabla III n°12.

2-benciltío-4-(3,4-diacetoxibencilidén)-5-(4H)-tiazolona

Preparado a partir de protocatecualdehído por el procedimiento B. Producto amarillo verdoso. Recristalizado de isopropanol-dioxano, p.f.=139-40°C. Rdt 46%

Análisis, tabla I nº13. Espectro IR, tabla II nº13. Espectro RMN, tabla III nº13.

2-benciltío-4-(3-metoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Preparado a partir de 3-metoxibenzaldehído por el procedimiento A. Producto amarillo. Recristalizado de isopropanol, p.f.=90-1°C. Rdt 48%

Análisis, tabla I nº14. Espectro IR, tabla II nº14. Espectro RMN, tabla III nº14

2-benciltío-4-(4-benciloxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Obtenido a partir de 4-benciloxibenzaldehído (53). Producto amarillo. Recristalizado de isopropanol-dioxano, p.f.=122-3°C. Rdt 30%

Análisis, tabla I nº15. Espectro IR, tabla II nº15. Espectro RMN, tabla III nº15.

2-benciltío-4-(1-acetil-indolil-3-metilén)-5(4H)-tiazolona

Preparado a partir del indol-3-aldehído por el procedimiento B. En este caso, para evitar la desacetilación, en vez de lavar con agua, se extrae el producto con cloroformo. Producto amarillo. Recristalizado de isopropanol-dioxano, p.f.=137-8°C. Rdt 43%

Análisis, tabla I nº17. Espectro IR, tabla II nº17. Espectro RMN, tabla III nº17

2-benciltío-4-indolil-3-metilén)-5(4H)-tiazolona

Preparado a partir de indol-3-aldehído por el procedimiento A. Producto naranja. Recristalizado de isopropanol-dioxano, p.f.=206-7°C.

Análisis, tabla I nº30. Espectro IR, tabla II nº30.

2-benciltio-4-(4-dimetilaminobencilidén)-5(4H)-tiazolona

Preparado a partir de 4-dimetilaminobenzaldehído por el procedimiento A. Cristales pardos. Recristalizado de isopropanol-dioxano, p.f.=150-1°C. Rdt 40%

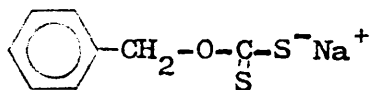
Análisis, tabla I nº16. Espectro IR, tabla II nº16. Espectro RMN, tabla III nº16.

3.- N-benciloxitiocarbonilglicina

a) O-bencil-xantogenato de sodio y S-bencil-xantogenato de sodio (45)

En un matraz de tres bocas de 1 l provisto de agitación mecánica, refrigerante de reflujo (terminado con tubo de cloruro cálcico anhidro) y embudo de llave, se colocan 150 ml de éter seco y 11.5 g (0.5 moles) de sodio limpio y en trozos pequeños. En el embudo de llave, se colocan 108 g (1 mol) de alcohol bencílico. Se va adicionando alcohol bencílico, lentamente al principio, de forma que se mantenga un reflujo suave. Cuando la reacción se modera, se calienta suavemente hasta que todo el sodio desaparezca, se enfría la solución y se añaden poco a poco y con agitación 42 g (0.6 moles) de S<sub>2</sub>C disueltos en 50 ml de éter seco. La reacción es exotérmica, así que hay que adicionar lentamente y, en caso necesario enfriar exteriormente con hielo. Terminada la adición se deja a temperatura ambiente, se filtra y lava con éter. Se obtienen 89 g de O-bencil-xantogenato de sodio, como un sólido blanco amarillento maloliente. Rdt 87%.

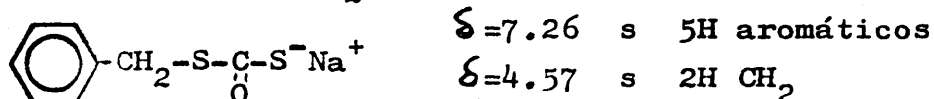
RMN (D<sub>2</sub>O-DDS)



$\delta=7.5$  s 5H aromáticos  
 $\delta=5.6$  s 2H CH<sub>2</sub>-O

Ocasionalmente, cuando el CS<sub>2</sub> se adicionaba demasiado aprisa y la mezcla de reacción se calentaba por ello excesivamente, no se obtenía el producto deseado, sino un isómero producido por transposición del grupo bencilo del O al S carbonílico (ver pg. 31) y cuya estructura, demostrada por el espectro RMN, corresponde a la de S-bencil-xantogenato de sodio. La misma transposición se producía también cuando el O-bencil-xantogenato de sodio obtenido como se indicó anteriormente, se abandonaba sólido y envasado largo tiempo en el laboratorio.

Espectro RMN (D<sub>2</sub>O-DDS)

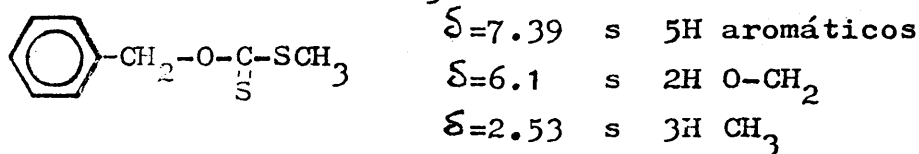


b) O-bencilxantogenato de metilo

Preparación basada en el método de Purres (63) para la preparación de metil xantatos.

Se suspenden 31 g (0.15 moles) de bencil-xantogenato de sodio recién preparado en unos 60 ml de etanol absoluto. A la suspensión se le añaden cuidadosamente y bajo agitación, 35 g (0.175 moles) de ICH<sub>3</sub> disueltos en 25 ml de etanol absoluto. Se deja a temperatura ambiente 0.5 hora, se enfría, se agrega éter seco (unos 60 ml) y se filtra. Se reúnen los extractos etéreos, se secan con Cl<sub>2</sub>Ca y se elimina el disolvente a vacío (a unos 50-60°C). El aceite residual (34 g, del 60-90% de pureza) se utiliza en la etapa siguiente. La pureza del compuesto bruto obtenido se deduce cómodamente por las intensidades relativas de las señales del espectro RMN.

Espectro RMN (Cl<sub>3</sub>CD-TMS)



c) N-benciloxitiocarbonilglicina

Preparación basada en el método de Davies (63).

Se utiliza el bencil-xantogenato de metilo bruto obtenido en el paso anterior. 20 g de bencilxantogenato de metilo (64 g, del 60% de pureza) se adicionan a una disolución de 8.5 g de glicina y 13 g de KOH en 50 ml de agua. A la mezcla, agitada mecánicamente, se añaden de 15 a 20 ml de etanol absoluto. Se agita durante unas 24 horas. En una vitrina que tenga buen tiro, se extrae la mezcla tres veces con éter (50 ml cada vez). Se descartan los extractos etéreos, y la fase acuosa se acidula con HCl conc. añadido en porciones. Se desprende una gran cantidad de gases malolientes, y precipita un aceite que se extrae dos veces con éter. La fase etérea se seca con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro, y se elimina el disolvente a vacío. El aceite residual se agita con agua, - con lo que la masa cuaja a un sólido blanco que recristaliza de benceno. Se obtuvieron 10 g de un sólido blanco, de color desagradable de p.f.=98-9°C.

Análisis para  $\text{C}_{10}\text{H}_{11}\text{O}_3\text{NS}$

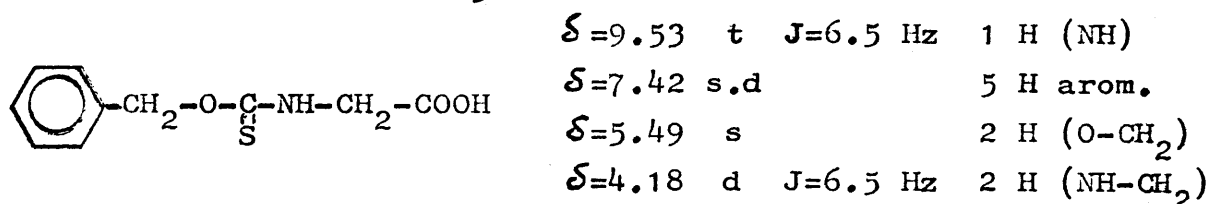
Calculado: 53.33% C; 4.92% H; 6.22% N; 14.20% S

Hallado : 53.59% C; 5.16% H; 5.93% N; 14.17% S

Espectro IR (BrK)

3250  $\text{cm}^{-1}$ , tensión NH (m); 1715  $\text{cm}^{-1}$  (f), tensión C=O ácido; 1540  $\text{cm}^{-1}$  (f), combinación flexión N-H y tensión C-N.

Espectro RMN ( $(\text{CD}_3)_2\text{SO-TMS}$ )



La señal a  $\delta=9.53$  desaparece al agitar la muestra con  $\text{D}_2\text{O}$ , y la señal a  $\delta=4.18$  colapsa en un singlete.

d) N-(benciltío) carbonilglicina (43)

Se preparó de modo análogo a la N-benciloxitiocarbonilglicina, utilizando S-bencil-xantogenato de sodio en vez de O-bencil-xantogenato de sodio. Sólido amarillo, p.f.=143-4°C  
Descrito p.f.=146-7°C (43).

Análisis para C<sub>10</sub>H<sub>11</sub>O<sub>3</sub>NS

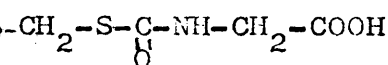
Calculado: 53.33% C; 4.92% H; 6.22% N; 14.20% S

Hallado : 53.24% C; 4.95% H; 6.20% N; 14.43% S

Espectro IR (BrK)

3290 cm<sup>-1</sup> (m) tensión N-H; 1735 cm<sup>-1</sup> (f) tensión C=O - ácido; 1635 cm<sup>-1</sup> (f) tensión C=O amida; 1535 cm<sup>-1</sup> (m) combinación flexión N-H y tensión C-N; 710 cm<sup>-1</sup> (m) monosustitución aromática.

Espectro RMN ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO-TMS)



δ=8.60	t	J=6.5 Hz	1 H (NH)
δ=7.48	s		5 H arom.
δ=4.14	s		2 H (S-CH <sub>2</sub> )
δ=3.88	d	J=6.5 Hz	2 H (NH-CH <sub>2</sub> )

4.- 2-benciloxi-4-arilidén-5(4H)-tiazolonas

Procedimientos generales:

Procedimiento A

0.052 moles del aldehído aromático, 0.05 moles de N-benciloxitiocarbonilglicina y 0.05 moles de acetato sódico anhidro, se suspenden en 50 ml de anhídrido acético. La mezcla se calienta a ebullición (5-10 min.). Se deja enfriar, con lo que cristaliza la 2-benciloxi-4-arilidén-5(4H)-tiazolona. Se filtra y lava con un poco de éter y luego con agua para eliminar el acetato sódico. Se recristaliza de un disolvente apropiado. Los rendimientos totales oscilan entre 30 y 50%.

### Procedimiento B

0.052 moles del aldehído aromático, 0.05 moles de N-benciloxitiocarbonilglicina y 0.05 moles de  $K_2CO_3$  anhidro se mezclan íntimamente. A la mezcla, colocada en un vaso de precipitado de 500 ml, se adicionan 60 ml de anhidrido acético. A los pocos minutos, la masa se calienta, se hincha y colorea. Se deja estar toda la noche. Al día siguiente se filtra el sólido, se lava primero con un poco de éter y luego con agua para eliminar el acetato sódico. Se recristaliza de un disolvente apropiado. Los rendimientos totales oscilan entre el 50 y el 70%. Diluyendo las aguas madres es posible obtener una cantidad adicional de producto.

Por alguno de estos procedimientos, se han obtenido las tiazolonas que se especifican a continuación:

#### 2-benciloxi-4-bencilidén-5(4H)-tiazolona

Obtenida a partir del benzaldehído según el procedimiento B. Producto rosáceo (agujas). Recristalizado de alcohol isopropílico, p.f.=111-2°C. Rdt 75%

Análisis, tabla I n°18. Espectro IR, tabla II n°18. Espectro RMN, tabla III n°18.

#### 2-benciloxi-4-(4-metoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Obtenida a partir de anisaldehído según el procedimiento A. Producto amarillo pálido (agujas). Recristalizado de isopropanol, p.f.=112-3°C. Rdt 50%

Análisis, tabla I n°19. Espectro IR, tabla II n°19. Espectro RMN, tabla III n°19.

#### 2-benciloxi-4-(4-nitrobencilidén)-5(4H)-tiazolona

Preparada a partir de 4-nitrobenzaldehído según el procedimiento B. Producto amarillo brillante (escamas). Recristalizado de dioxano, p.f.=184-5°C. Rdt 53%

Análisis, tabla I n°20. Espectro IR, tabla II n°20. Espectro RMN, tabla III n°20.

2-benciloxi-4-(4-metilbencilidén)-5(4H)-tiazolona

Obtenida a partir de 4-tolualdehído por el procedimiento B. Producto amarillo tostado. Recristalizado de metanol, p.f.=84-5°C.

Análisis, tabla I n°21. Espectro RMN, tabla III n° 21.

2-benciloxi-4-(4-clorobencilidén)-5(4H)-tiazolona

Obtenida a partir de 4-clorobenzaldehído por el procedimiento B. Producto de color crema. Recristalizado de etanol, p.f.=137-8°C. Rdt 53%.

Análisis, tabla I n°22. Espectro IR, tabla II n°22. Espectro RMN, tabla III n°22.

2-benciloxi-4-(4-acetoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Obtenida a partir de 4-hidroxibenzaldehído por el procedimiento B. Producto blanco amarillento. Recristalizado de etanol, p.f.=121-2°C.

Análisis, tabla I n°23. Espectro IR, tabla II n°23. Espectro RMN, tabla III n°23.

2-benciloxi-4-(3-acetoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Obtenida a partir de 3-hidroxibenzaldehído por el procedimiento B. Producto de color crema. Recristalizado de isopropanol, p.f.=102-3°C. Rdt 48%

Análisis, tabla I n°24. Espectro IR, tabla II n°24. Espectro RMN, tabla III n°24.

2-benciloxi-4-(3,4-dimetoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Obtenida a partir de 3,4-dimetoxibenzaldehído por el procedimiento A. Producto amarillo. Recristalizado de isopropanol, p.f.=112-4°C. Rdt 30%

Análisis, tabla I n°26. Espectro IR, tabla II n°26. Espectro RMN, tabla III n°26.

2-benciloxi-4-(4-benciloxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Obtenida a partir del 4-benciloxibenzaldehído por el procedimiento A. Producto rosáceo. Recristalizado de isopropanol-dioxano, p.f.=115-6°C. Rdt 50%

Análisis, tabla I n°27. Espectro IR, tabla II n°27. Espectro RMN, tabla III n°27.

2-benciloxi-4-(1-acetil-indolil-3-metilén)-5(4H)-tiazolona

Obtenida a partir de indol-3-aldehído por el procedimiento B, en este caso calentando a unos 60° y con agitación durante tres horas. Producto amarillo. Recristalizado de isopropanol, p.f.=131-2°C. Rdt 50%

Análisis, tabla I n°28. Espectro IR, tabla II n°28. Espectro RMN, tabla III n°28.

2-benciloxi-4-(4-piridín-metilén)-5(4H)-tiazolona

Obtenida a partir de piridín-4-aldehído por el procedimiento B. Producto marrón. Recristalizado de alcohol amílico, p.f.=99-100°C. Rdt 14%

Análisis, tabla I n°29. Espectro IR, tabla II n°29. Espectro RMN, tabla III n°29.

2-metil-4-(4-acetoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Producto obtenido en la condensación de 0.052 moles de 4-hidroxibenzaldehído con 0.05 moles de N-(benciltio) carbonilglicina en presencia de 0.05 moles de acetato sódico y 50 ml de anhídrido acético, según el procedimiento general A. Producto amarillo. Recristalizado de etanol, p.f.=132-3°C.

Análisis para  $C_{13}H_{11}O_4N$

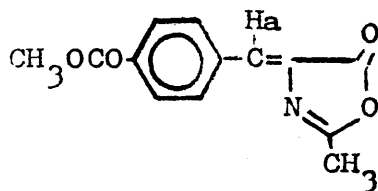
Calculado: 63.60% C; 4.40% H; 5.70% N;

Hallado : 63.34% C; 4.26% H; 5.59% N

Espectro IR (Nujol)

1770  $cm^{-1}$  (f) tensión C=O; 1640  $cm^{-1}$  (f) tensión C=N  
y C=C.

Espectro RMN ( $Cl_3CD-TMS$ )



$\delta=8.16$	d	$J=9.0$	2 H arom.
$\delta=7.24$	d	$J=9.0$	2 H arom.
$\delta=7.17$	s		1 H (Ha)
$\delta=2.42$	s		3 H (OCOCH <sub>3</sub> )
$\delta=2.33$	s		3 H (CH <sub>3</sub> )

La estructura fué confirmada por la preparación de este compuesto según el método de Pyman (46) a partir de acetilglicina (65) y 4-hidrobencaldehído tal como sigue:

3.1 g de 4-hidroxibenzaldehído, 2.9 g de acetilglicina, 2.2 g de acetato sódico anhidro y 25 ml de anhídrido acético se calientan en un baño de agua hasta total disolución. Se refluje durante 1/4 h y se deja enfriar. La masa sólida se trata con agua-hielo, se filtra y seca al aire. Se obtiene un sólido amarillo que recristaliza de isopropanol. p.f.=132-3°C, y cuyas características espectroscópicas coinciden con las descritas anteriormente.

#### 5.- Intentos de obtención de 2-benciltio (ó benciloxi)-4-alquilidén-5(4H)-tiazolonas

En la condensación de acetona e isobutiraldehído con N-benciloxitiocarbonilglicina o con N-ditiocarbobenciloxiglicina en presencia de anhídrido acético según los métodos generales B descritos en las pgs. 80 y 88, se obtuvieron aceites amarillos, mezclas complejas de productos que no lograron separarse por ninguno de los métodos habituales.

II. REACCIONES DE ADICION DE DIAZOMETANO A 2-BENCILTIO (6 benciloxi)-4-ARILIDEN-5(4H)-TIAZOLONAS

1.- Preparación de diazometano

a) Acetil-metilurea (66)

A una disolución de 59 g (1 mol) de acetamida en 88 g (0.055 moles) de  $\text{Br}_2$  en un erlenmeyer de 4 l, se agrega -gota a gota y agitando a mano una disolución de 40 g (1 -mol) de NaOH en 160 ml de agua. La mezcla de reacción resultante se calienta en baño maría hasta que comience la efervescencia (hay que tener cuidado porque a veces la -reacción puede ser violenta y salir la mezcla disparada). Se corta la calefacción hasta que la efervescencia haya -pasado, después de lo cual se continúa calentando 2 ó 3 min. más. La cristalización del producto a partir de la disolución amarilla o roja suele comenzar inmediatamente y se completa enfriando en baño de hielo durante 1 h. El peso de la acetil-metilurea obtenida por filtración y -secado al aire es de 49 g a 52 g (Rdt 84%) p.f.=169-70°C.

b) Nitrosometilurea (66)

Una mezcla de 49 g de acetil-metilurea y 50 ml de HCl conc. se calientan agitando hasta que aparentemente no se disuelva más sólido, se continúa la calefacción dos o tres minutos, después de lo cual se diluye con un volumen igual de agua y se enfría por debajo de 10°C con un baño de hielo. Se agrega lentamente y con agitación una solución saturada y fría de 38 g de  $\text{NO}_2\text{Na}$  en 55 ml de agua. La mezcla -se deja en baño de hielo durante varios minutos. Se filtra la nitrosometilurea y se lava con unos 10 ml de agua helada. Se seca al aire y se obtiene de 33 a 36 g de producto con p.f.=123-4°C.

c) Diazometano (67)

10.3 g de nitrosometilurea se agregan en porciones sobre 100 ml de benceno, que forma una capa sobre 30 ml de una disolución de KOH al 40% enfriada con hielo. La reacción se efectúa en vitrina (el diazometano es tóxico y explosivo) alejado de todo tipo de fuego y con agitación continua. La temperatura se suele mantener alrededor de 5°C. Cuando la solución está clara, se decanta la fase orgánica de color amarillo. La fase acuosa se lava dos veces con 15 ml de benceno, decantando cada vez. La fase orgánica se seca con lentejas de KOH. La solución conviene mantenerla a baja temperatura. La solución así preparada, contiene aproximadamente 2.6 g de diazometano (0.06 moles).

2.- Preparación de 1-aril-5-benciloxi(ó benciltio)-6-tio-4-  
-aza-espiro(2,4)hept-4-en-7-onas

Procedimiento general

0.025 moles de la correspondiente 2-benciltio(ó benciloxi)-4-arilidén-5(4H)-tiazolona, suspendidos en 100 ml de benceno, en un erlenmeyer de boca ancha, se calientan en baño de agua a unos 40-50°C. Se agita la mezcla mecánicamente y se va adicionando en porciones la solución bencénica de diazometano, no añadiendo una porción hasta que haya cesado el desprendimiento de nitrógeno. Se añade una porción más, se agita durante 1/2 h más a 40-50°C, y se deja estar la mezcla toda la noche a temperatura ambiente. Al día siguiente se destruye el exceso de diazometano con unas gotas de ácido acético, se elimina el disolvente a vacío, se diluye con éter y vuelve a eliminar a vacío, y se añaden unos mls más de éter. Por enfriamiento cristaliza el espiroderivado, que se filtra y se recristaliza de un disolvente apropiado.

Se suele utilizar el diazometano obtenido a partir de un peso de nitrosometilurea doble del peso del arilidén derivado

que va a utilizarse en la reacción.

La reacción se sigue bien por cromatografía de capa fina sobre silicagel GF<sub>254</sub>, con benceno como eluyente. Ambos, producto de partida y producto de reacción, tienen el mismo R<sub>f</sub>, con la diferencia de que el arilidén derivado fluoresce a 350 m $\mu$ , y el ciclopropilderivado no.

En algunos casos el ciclopropilderivado no cristalizó en el medio etéreo, por lo que se hizo necesario separar un poco de producto de la mezcla en placa preparativa sobre silicagel, utilizando benceno como disolvente de desarrollo y una mezcla de benceno-acetato de etilo 1:4 (v/v) para eluir el producto, con el fin de obtener unos cristales con los que sembrar la solución etérea. De este modo se favoreció la cristalización del producto.

Siguiendo este método general se aislaron y caracterizaron los siguientes compuestos:

A.- Productos de adición de diazometano a las 2-benciloxi-4-bencilidén-5(4H)-tiazolonas:

1-fenil-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado por adición de diazometano a la 2-benciloxi-4-fenil-5(4H)tiazolona según el método general. Producto blanco. Recristalizado de isopropanol, p.f.=77-8°C. Rdt 33%

Análisis, tabla IV n°17. Espectro IR, tabla V n°17. Espectro RMN, tabla VI n°17.

1-(4-metoxifenil)-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciloxi-4-(4-metoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona. Producto amarillo pálido. Recristalizado de isopropanol, p.f.=68-9°C. Rdt 22%

Análisis, tabla IV n°18. Espectro IR, tabla V n°18. Espectro RMN, tabla VI n°18.

1-(4-nitrofenil)-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-  
-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciloxi-4-(4-nitrobencilidén)-5-(4H)-tiazolona. Producto amarillento. Recristalizado de acetato de etilo, p.f.=125-6°C. Rdt 30%

Análisis, tabla IV nº19. Espectro IR, tabla V nº19. Espectro RMN, tabla VI nº19.

1-(4-clorofenil)-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)-hept-  
-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciloxi-4-(4-clorobencilidén)-5(4H)-tiazolona. Agujas blancas. Recristalizado de etanol. p.f.=95-6°C, Rdt 40%

Análisis, tabla IV nº20. Espectro IR, tabla V nº20. Espectro RMN, tabla VI nº20.

1-(4-acetoxifenil)-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-  
-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciloxi-4-(4-acetoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona. Cristales blancos. Recristalizado de isopropanol, p.f.=117-8°C. Rdt 38%

Análisis, tabla IV nº21. Espectro IR, tabla V nº21. Espectro RMN, tabla VI nº21.

1-(3-acetoxifenil)-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-  
-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciloxi-4-(3-acetoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona. Cristales blancos. Recristalizado de isopropanol, p.f.=102-3°C. Rdt 48%

Análisis, tabla IV nº22. Espectro IR, tabla V nº22. Espectro RMN, tabla VI nº22.

Adición de diazometano a 2-benciloxi-4-(3,4-dimetoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Se procedió según el método general, obteniéndose un sírupo amarillo, mezcla de varios productos, que no pudieron separarse por los métodos habituales.

Adición de diazometano a 2-benciloxi-4-(4-benciloxibencilidén)-5(4H)-tiazolona

Se adicionó diazometano según el método general, cristalizando de la solución etérea fraccionadamente dos productos:

a) 5-(4-benciloxifenil)-7-benciloxi-11-oxa-8-tia-2,3,6-triazadiespiro-(4,4,2,0)dodeca-2,6-dieno

Producto blanco. Recristalizado de isopropanol-dioxano, p.f.=148-9°C. Rdt 9%

Análisis para  $C_{27}H_{25}O_3N_3S$

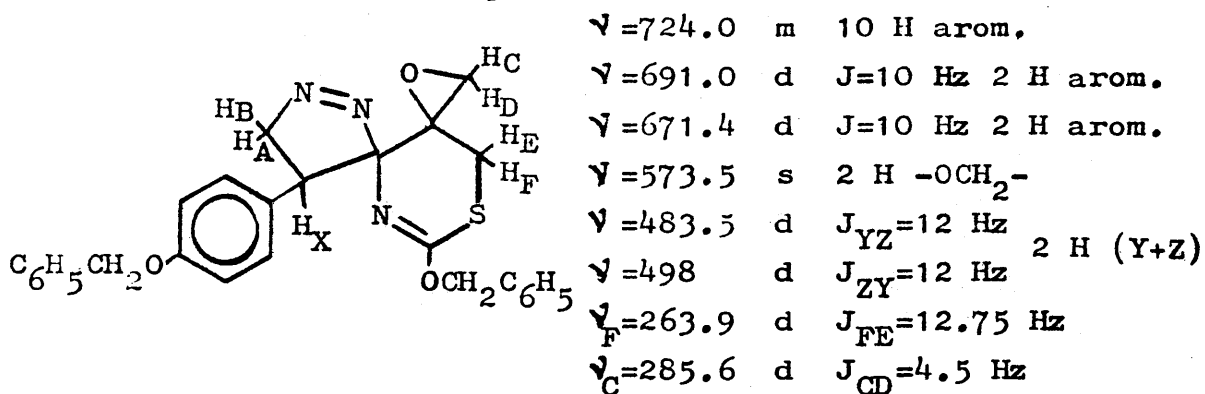
Calculado: 68.77% C; 5.34% H; 8.91% N; 6.78% S

Hallado : 68.89% C; 5.07% H; 9.07% N; 6.75% S

Espectro IR (BrK)

1635  $cm^{-1}$  tensión N=N; 1520  $cm^{-1}$  tensión C=N y C=C aromático; 1255  $cm^{-1}$  tensión C-O; 740, 700  $cm^{-1}$  monosustitución aromática; 850, 800  $cm^{-1}$  1,4-disustitución aromática.

Espectro RMN ( $Cl_3CD-TMS$ , 100 MHz)



$\nu_E = 338.2$  c  $J_{ED} = 1.5$ ;  $J_{EF} = 12.75$  Hz

$\nu_D = 355.7$  c  $J_{DC} = 4.5$ ;  $J_{DE} = 1.5$  Hz

Sistema ABX:  $\nu_X = 321.5$ ,  $\nu_A = 492.04$ ,  $\nu_B = 457.47$ ,  $J_{AB} = -17.5$ ,  $J_{AX} = 8.58$ ,  $J_{BX} = 6.92$  Hz.

b) 1-(4-benciloxibencilidén)-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

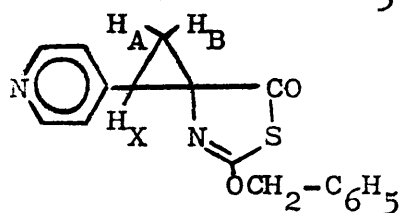
Cristales blancos. Recristalizado de isopropanol, p.f.=77-8°C. Rdt 8%.

Análisis, tabla IV n°23. Espectro IR, tabla V n°23. Espectro RMN, tabla VI n°23.

Adición de diazometano a 2-benciloxi-4-(4-piridín-metilén)-5-(4H)-tiazolona

Se adicionó diazometano según el método general, obteniéndose una mezcla de productos muy compleja, de los cuales uno de ellos parece ser según su espectro RMN el 1-(4-piridín)-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona.

Espectro RMN (Cl<sub>3</sub>CD-TMS)



$\delta=8.62$	m	2 H arom.
$\delta=7.33$	s+m	7 H arom.
$\delta=5.28$	s	2 H -OCH <sub>2</sub> -
$\delta=3.02$	t	1 H (X)
$\delta=2.20$	d	2 H (A+B)

Espectro no fiable debido a las impurezas de la muestra, de la cual se obtuvo tan poca cantidad (Rdt 1%) que no se pudieron obtener más datos que confirmaran esta estructura.

B.- Productos de adición de diazometano a las 2-benciltio-4-bencilidén-5(4H)-tiazolonas:

1-fenil-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciltio-4-bencilidén-5(4H)-tiazolona. Agujas blancas. Recristalizado de isopropanol, p.f.=91-2°C. Rdt 42%

Análisis, tabla IV n°1. Espectro IR, tabla V n°1. Espectro RMN, tabla VI n°1.

1-(4-metoxifenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciltio-4-(4-metoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona. Cristales blancos. Recristalizado de iso-

propanol, p.f.=90-1°C. Rdt 45%

Análisis, tabla IV nº2. Espectro IR, tabla V nº2. Espectro RMN, tabla VI nº2.

1-(4-nitrofenil)-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciltío-4-(4-nitrobencilidén)-5(4H)-tiazolona. Cristales amarillo pálido. Recristalizado de acetato de etilo, p.f.=110-2°C. Rdt 35%

Análisis, tabla IV nº3. Espectro IR, tabla V nº3. Espectro RMN, tabla VI nº3.

1-(4-tolil)-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciltío-4-(4-metilbencilidén)-5(4H)-tiazolona. Cristales blancos. Recristalizado de isopropanol, p.f.=95-6°C. Rdt 45%

Análisis, tabla IV nº4. Espectro IR, tabla V nº4. Espectro RMN, tabla VI nº4.

1-(4-clorofenil)-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciltío-4-(4-clorobencilidén)-5(4H)-tiazolona. Cristales blancos. Recristalizado de isopropanol, p.f.=88-9°C. Rdt 37%

Análisis, tabla IV nº5. Espectro IR, tabla V nº5. Espectro RMN, tabla VI nº5.

1-(3-clorofenil)-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciltío-4-(3-clorobencilidén)-5(4H)-tiazolona. Cristales blancos. Recristalizado de isopropanol, p.f.=72-3°C. Rdt 29%

Análisis, tabla IV nº6. Espectro IR, tabla V nº6. Espectro RMN, tabla VI nº6.

1-(4-fluorofenil)-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciltío-4-(4-fluorobencilidén)-5(4H)-tiazolona. Cristales blancos. Recristalizado de isopropanol, p.f.=67-9°C. Rdt 31%

Análisis, tabla IV nº7. Espectro IR, tabla V nº7. Espectro RMN, tabla VI nº7.

1-(3,4-metilendioxfenil)-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciltío-4-(3,4-metilendioxibencilidén)-5(4H)-tiazolona. Producto blanco. Recristalizado de isopropanol-éter, p.f.=83-4°C. Rdt 35%

Análisis, tabla IV nº8. Espectro IR, tabla V nº8. Espectro RMN, tabla VI nº8.

1-(4-acetoxifenil)-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciltío-4-(4-acetoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona. Agujas blancas. Recristalizado de isopropanol. p.f.=77-8°C. Rdt 37%

Análisis, tabla IV nº9. Espectro IR, tabla V nº9. Espectro RMN, tabla VI nº9.

1-(3-acetoxifenil)-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciltío-4-(3-acetoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona. Agujas blancas. Recristalizado de isopropanol, p.f.=85-6°C. Rdt 38%

Análisis, tabla IV nº10. Espectro IR, tabla V nº10. Espectro RMN, tabla VI nº10.

1-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciltío-4-(3-acetoxi-4-metoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona. Agujas blancas. Recristalizado de acetato de etilo (muy poco) primero y luego de isopropanol,

p.f.=112-3°C. Rdt 40%

Análisis, tabla IV n°11. Espectro IR, tabla V n°11. Espectro RMN, tabla VI n°11.

1-(3-metoxi-4-acetoxifenil)-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciltío-4-(3-metoxi-4-acetoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona. Producto blanco. Recristalizado de acetato de etilo, p.f.=108-10°C. Rdt 50%

Análisis, tabla IV n°12. Espectro IR, tabla V n°12. Espectro RMN, tabla VI n°12.

1-(3,4-diacetoxifenil)-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciltío-4-(3,4-diacetoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona. Cristales blancos. Recristalizado de etanol, p.f.=115-7°C. Rdt 51%

Análisis, tabla IV n°13. Espectro IR, tabla V n°13. Espectro RMN, tabla VI n°13.

1-(3-metoxifenil)-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciltío-4-(3-metoxibencilidén)-5(4H)-tiazolona. Cristales blancos. Recristalizado de etanol, p.f.=64-5°C. Rdt 44%

Análisis, tabla IV n°14. Espectro IR, tabla V n°14. Espectro RMN, tabla VI n°14.

1-(4-benciloxifenil)-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciltío-4-(4-benciloxibencilidén)-5(4H)-tiazolona. Cristales blancos. Recristalizado de isopropanol, p.f.=75-6°C.

Análisis, tabla IV n°15. Espectro IR, tabla V n°15. Espectro RMN, tabla VI n°15.

2-benciltío-4-(4-dimetilaminofenil-1-etilidén)-5(4H)-tiazolona

Obtenido a partir de 2-benciltío-4-(4-dimetilaminobencilidén)-5(4H)-tiazolona. Producto rojo, p.f.=81-3°C. Rdt 75%.

Análisis para  $C_{20}H_{20}ON_2S_2$

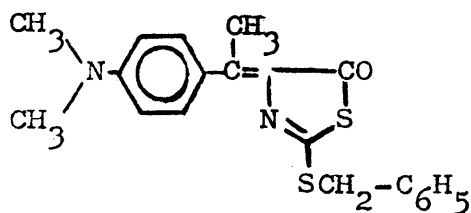
Calculado: 65.20% C; 5.47% H; 7.60% N;

Hallado : 65.24% C; 5.59% H; 7.34% N

Espectro IR (BrK)

1720  $cm^{-1}$  (f), tensión C=O tiazolona; 1620  $cm^{-1}$  (d) tensión C=C; 1555  $cm^{-1}$  y 1520  $cm^{-1}$  (m), tensión C=N y C=C aromático; 740, 700  $cm^{-1}$  (m), monosustitución aromática; 840  $cm^{-1}$  (m), 1,4-disustitución aromática.

Espectro RMN ( $CCl_3D$ -TMS)



$\delta=7.72$	d	$J=9.3$	2H	aromáticos
$\delta=7.37$	s		5H	aromáticos
$\delta=6.62$	d	$J=9.3$	2H	aromáticos
$\delta=4.48$	s		2H	S- $CH_2$
$\delta=3.05$	s		6H	$(CH_3)_2-N$
$\delta=2.67$	s		3H	$CH_3$

(1-acetil-indolil-3)-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Preparado a partir de 2-benciltío-4-(1-acetil-indolil-3)-metilén-5(4H)-tiazolona. Producto blanco. Recristalizado de isopropanol, p.f.=118-20°C. Rdt 2%

Análisis, tabla IV n°16. Espectro IR, tabla V n°16. Espectro RMN, tabla VI n°16.

3.- Separación y estudio de la mezcla de productos formada en la adición de diazometano a la 2-benciloxi-4-bencilidén-5-(4H)-tiazolona

A una disolución de 0.025 moles de 2-benciloxi-4-bencilidén-5(4H)-tiazolona en benceno, se adiciona una solución bencénica de diazometano a 40-50°C, tal como se describe en

el método general anteriormente mencionado (ver pg. 93). Del aceite residual obtenido después de eliminar el benceno a vacío, se separaron seis productos por cromatografía en capa fina preparativa sobre silicagel GF<sub>254</sub>, con benceno como disolvente y una mezcla benceno-acetato de etilo 1:4 (v/v) como eluyente para las fracciones del frente y 1:1 (v/v) para las fracciones más próximas al origen.

Los productos separados se describen a continuación:

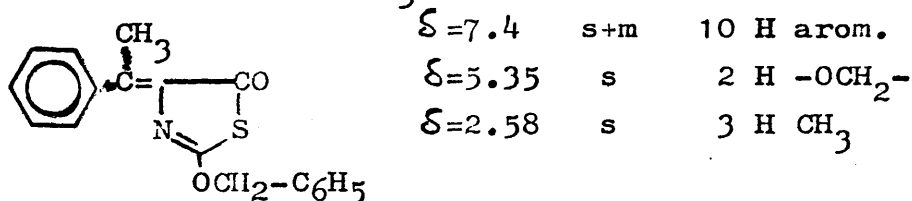
Compuesto 1.- Se identificó como 2-benciloxi-4-(1-feniletildén)-5(4H)-tiazolona. Producto blanco, con  $R_f \approx 0.45$ . Recristalizado de metanol-acetato de etilo, p.f.=55-6°C.

Análisis para  $C_{18}H_{15}O_2NS$

Calculado: 69.89% C; 4.88% H; 4.52% N; 10.35% S

Hallado : 69.14% C; 4.72% H; 4.45% N; 10.00% S

Espectro RMN ( $CCl_3D-TMS$ )



Compuesto 2.- Se identifica como la (Z)-1-fenil-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona. Producto blanco, con  $R_f \approx 0.40$ . Recristalizado de isopropanol, p.f.=77-8°C. Rdt 33%. El compuesto es idéntico al descrito en la página 94.

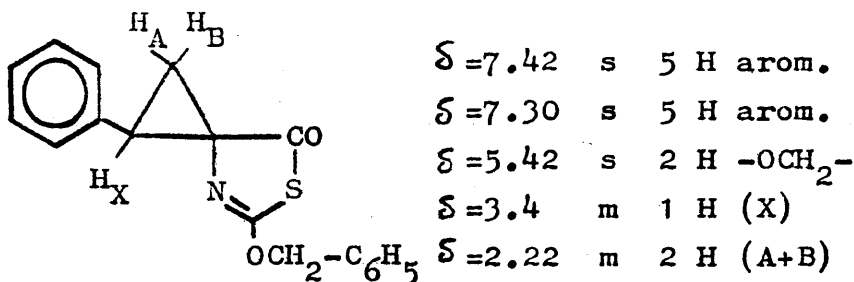
Compuesto 3.- Identificado como (E)-1-fenil-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona. Producto blanco, con  $R_f \approx 0.28$ , p.f.=84-5°C.

Análisis para  $C_{18}H_{15}O_2NS$

Calculado: 69.89% C; 4.59% H; 4.69% N; 10.63% S

Hallado : 69.89% C; 4.88% H; 4.52% N; 10.34% S

Espectro RMN ( $CCl_3D-TMS$ )



**Compuesto 4.**- Provisionalmente se le asigna una estructura - de 2-fenil-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,5)oct-4-en-8-ona. Producto blanco con  $R_f \approx 0.14$ . Recristalizado de metanol, p.f. =  $66-7^\circ\text{C}$ .

Análisis para  $\text{C}_{19}\text{H}_{17}\text{O}_2\text{NS}$

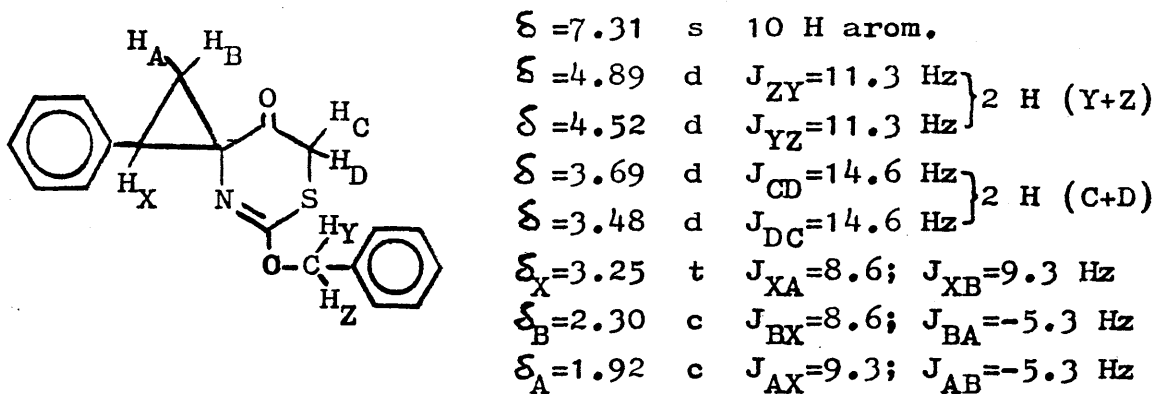
Calculado: 70.59% C; 5.26% H; 4.33% N; 9.91% S

Hallado : 69.73% C; 4.91% H; 4.32% N; 9.39% S

Espectro IR (BrK)

$1685\text{ cm}^{-1}$  (f), tensión C=O;  $1635\text{ cm}^{-1}$  (f), tensión C=N;  $1185\text{ cm}^{-1}$  (f), tensión C-O;  $760, 700\text{ cm}^{-1}$  (m), monosustitución aromática.

Espectro RMN ( $\text{CCl}_3\text{D-TMS}$ )



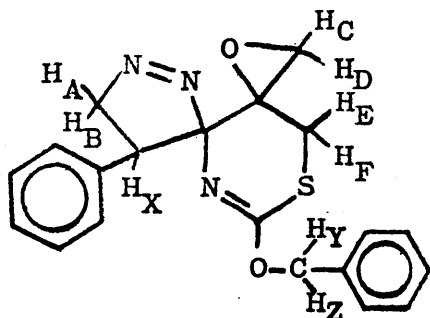
**Compuesto 5.**- Identificado como 5-fenil-7-benciloxi-11-oxa-8-tia-2,3,6-triaza-diespiro(4,4,2,0)dodeca-2,6-dieno. Producto blanco, con  $R_f \approx 0.05$ . Recristalizado de isopropanol-dioxano, p.f. =  $163-4^\circ\text{C}$  (c.d)

Análisis para  $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_2\text{S}$

Calculado: 65.75% C; 5.20% H; 11.50% N; 8.76% S

Hallado : 65.56% C; 5.15% H; 11.48% N; 8.67% S

Espectro RMN (100 Mz) ( $Cl_3CD-TMS$ )



$\nu=725$	m	10 H arom.
$\nu=470$	d	$J_{XY}=-12$ Hz
$\nu=488.7$	d	$J_{YX}=-12$ Hz
$\nu=348$	c	$J_{DC}=4.5$ Hz, $J_{DE}=1.5$ Hz
$\nu=335.5$	c	$J_{ED}=1.5$ Hz, $J_{FE}=12.5$ Hz
$\nu=280.8$	d	$J_{CD}=4.5$ Hz
$\nu=261.5$	d	$J_{FE}=12.5$ Hz

Sistema ABX:

$\nu_X=322.5$ ,  $\nu_A=492.1$ ,  $\nu_B=465.3$ ,  $J_{AB}=-17.5$  Hz,  $J_{XA}=8.7$  Hz,  $J_{XB}=6.3$  Hz.

### III.- REACCIONES DE HIDROLISIS DE LAS ESPIROTHIAZOLONAS

#### 1.-Hidrólisis básica parcial. Apertura del anillo de tiazolona

##### a) Hidrólisis parcial de 1-fenil-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona.

###### Método A

1 g del espiroderivado se adiciona a una solución etanólica de potasa (1 g en 15 ml) y la mezcla se agita durante unas 3 hrs. a temperatura ambiente. Se separa un precipitado blanco por filtración, y se lava primero con un poco de etanol y después con éter. Este precipitado se extrae con agua, en la que es parcialmente soluble.

La parte insoluble en agua es un sólido blanco que recristaliza de etanol con p.f.=81-2°C, y que se identificó por espectroscopias IR y RMN y análisis, como una mezcla de 1-benciloxicarbonilamino-2-fenil-ciclopropanocarbonilato de etilo y su isómero 1-benciloxitiocarbonilamino-2-fenil-ciclopropanocarboxilato de etilo (ver pg. 52). Análisis, tabla XII nº1. Espectro IR, tabla XIII nº4. Espectro RMN, tabla XIV nº6.

La solución acuosa se aciduló con ácido clorhídrico diluido hasta  $\text{pH} \approx 3$ , con lo que precipitó un sólido blanco que se recristalizó de benceno-éter de petróleo, con p.f.=128-9°C. El producto se identificó, por análisis elemental (tabla XII nº2), espectro IR (tabla XIII nº3), espectro RMN (tabla XIV nº8), y por desulfuración con  $\text{Ag}_2\text{O}$  (ver pg.106) como una mezcla formada por los dos ácidos correspondientes a los dos ésteres etílicos citados anteriormente y de estructuras (LXI) y (LXII) (ver pg. 52).

###### Método B

1 g del espiroderivado se suspende en una disolución acuosa de potasa (1 g en 15 ml). A la mezcla se le van añadiendo gotas de dioxano o de tetrahydrofurano hasta disolución completa, y se abandona agitando varias horas. Se elimina el disol-

vente orgánico a vacío, y se acidula la solución acuosa con HCl diluido. Precipita un sólido blanco, que se recristaliza de benceno, de p.f.=128-9°C, y cuyos análisis elemental y espectros IR y RMN coinciden con los de los correspondientes a la mezcla de los dos ácidos del apartado a) anterior.

b) Desulfuración de la mezcla de ácidos originada en la hidrólisis parcial de 1-fenil-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Método A (Basado en (68))

Se disuelven 1.7 g de la mezcla de ácidos obtenida en el apartado a) en una disolución de 1.75 g de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  en 30 ml de agua. Se añade agitando una disolución de 1.8 g de  $\text{AgNO}_3$  en 15 ml de agua. Se agita durante 1 h y deja estar toda la noche. Se separa el  $\text{Ag}_2\text{S}$  por filtración y se acidula la disolución, con lo que precipita un producto blanco que recristaliza de benceno de p.f.=158-9°C. Se identificó como el ácido 1-benciloxicarbonilamino-2-fenil-ciclopropanocarboxílico. Análisis, tabla XII nº3. Espectro IR, tabla XIII nº1. Espectro RMN, tabla XIV nº1.

Método B (Basado en (69))

A una disolución en éter de 1 g de la mezcla de ácidos obtenida según el apartado a) precedente en la hidrólisis parcial de 1-fenil-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona, se añade un exceso de  $\text{Ag}_2\text{O}$ . Se deja agitar toda la noche. El  $\text{Ag}_2\text{O}$  en exceso y el  $\text{Ag}_2\text{S}$  formado se separan por filtración. Se elimina el disolvente orgánico a vacío. El residuo es un sólido blanco de p.f.=158-9°C, y cuyo análisis elemental y espectros IR y RMN coinciden con los del producto obtenido por el método A para el ácido 1-benciloxicarbonilamino-2-fenil-ciclopropanocarboxílico.

c) Metanolisis de 1-fenil-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

A una disolución de 1 g del espiroderivado en 2 ml de metanol caliente, se añade una cantidad catalítica de metóxido sódico (media lenteja de sodio en 5 ml de metanol). - Se agita durante 0.5 h. Se elimina el disolvente a vacío y se obtiene un sólido rosáceo, que recristaliza de isopropanol, de p.f.=91-2°C. El producto obtenido se identificó - por análisis (tabla XII nº4), espectro IR (tabla XIII nº6) y espectro RMN (tabla XIV nº7), como una mezcla de los ésteres metílicos correspondientes a los ácidos 1-benciloxi carbonilamino-2-fenil-ciclopropanocarboniltiólico y 1-benciloxitiocarbonilamino-2-fenil-ciclopropanocarboxilato de etilo (ver fórmulas (LXI) y (LXII) en la pg. 52).

d) Desulfuración de la mezcla de esteres obtenida en la metanolisis de 1-fenil-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

Una disolución en éter de 1.5 g de la mezcla de esteres metílicos originada según el apartado c), se trata con un exceso de  $Ag_2O$ , según el método general B descrito en la pg. 106. Se obtiene un sólido blanco, que se recristaliza de metanol-agua, con p.f.=65-6°C, y se identifica como 1-benciloxicarbonilamino-2-fenil-ciclopropanocarboxilato de metilo. Análisis, tabla XII nº5. Espectro IR, tabla XIII nº2. Espectro RMN, tabla XIV nº2.

2.- Hidrólisis básica total. Acidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos

a) Hidrólisis de 1-aril-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas

Procedimiento general

A una disolución de KOH en etanol (1.5 g en 50 ml) se

agregan 2 g del correspondiente espiroderivado. Se agita a unos 40-50°C durante unos minutos. El producto se disuelve rápidamente y, tras corto tiempo, comienza a cristalizar - una nueva sustancia. Se deja a temperatura ambiente durante 1 h y después en refrigerador toda la noche. Al día siguiente, se filtra el producto, se lava con éter y se seca rápidamente. Se disuelve en poca agua (unos 20 ml) y la solución se acidula con HCl conc. hasta pH 1. Se desprende - un gas maloliente y precipita una sustancia que se redissuelve a medida que baja el pH. Quedan unos pequeños residuos sin disolver; la disolución se trata con carbón activo y - se filtra. El pH se lleva a 6.5-7 por adición de una disolución concentrada de  $K_2CO_3$ . Por rascado de las paredes y enfriamiento (y a veces espontáneamente) cristaliza el correspondiente aminoácido, que se filtra y se recrystaliza, la mayor parte de las veces de agua.

b) Hidrólisis de las 1-aril-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas

Procedimiento general

A una disolución de KOH en etanol (1 g de KOH en 15 ml de etanol), se agrega 1 g del correspondiente espiroderivado. Se mantiene a reflujo durante 1 h. Por enfriamiento - cristaliza un sólido blanco que se filtra y se lava con un poco de alcohol y después con éter. El precipitado se disuelve en agua, y se lleva con HCl al 50% hasta pH 1-2. La disolución se trata con carbón activo y se filtra. El pH - se lleva a 6.5-7 por adición de una disolución concentrada de  $K_2CO_3$ , con lo que precipita el aminoácido.

Utilizando uno de estos procedimientos -y en ocasiones ambos- se han preparado los siguientes aminoácidos:

Acido 1-amino-2-fenil-ciclopropanocarboxílico

Preparado por hidrólisis alcalina de la 1-fenil-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona y de la 1-fenil-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona. - Cristales blancos. Recristalizado de agua, p.f.=156-7°C. - Rdt 60%.

Análisis para  $C_{10}H_{11}O_2N$

Calculado: 67.95% C; 6.38% H; 7.67% N

Hallado : 67.77% C; 6.25% H; 7.90% N

Espectro IR, tabla VII nº1. Espectro RMN, tabla VIII - nº1.

Acido 1-amino-2-(4-metoxifenil)-ciclopropanocarboxílico

Preparado por hidrólisis alcalina de la 1-(4-metoxifenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona y de la 1-(4-metoxifenil)-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona. Cristales blancos, Recristalizado de agua, p.f.=186-7°C. Rdt 75%.

Espectro IR, tabla VII nº2. Espectro RMN, tabla VIII - nº2.

Acido 1-amino-2-(4-tolil)-ciclopropanocarboxílico

Preparado por hidrólisis alcalina de la 1-(4-tolil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona. Producto blanco. Recristalizado de agua, p.f.=179-80°C. Rdt 38%.

Espectro IR, tabla VII nº3. Espectro RMN, tabla VII - nº3.

Acido 1-amino-2-(4-clorofenil)-ciclopropanocarboxílico

Preparado por hidrólisis alcalina de la 1-(4-clorofenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona y de la 1-(4-clorofenil)-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona. Producto blanco. Recristalizado de agua. - p.f.=175-6°C. Rdt 45% en el caso del benciltioespiroderivado y 13% en el caso del benciloxiespiroderivado.

Espectro IR, tabla VII nº4. Espectro RMN, tabla VIII - nº4.

Acido 1-amino-2-(3-clorofenil)-ciclopropanocarboxílico

Preparado por hidrólisis alcalina de la 1-(3-clorofenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona. Cristales blancos. Recristalizado de agua, p.f.=148-9°C. Rdt 40%.

Espectro IR, tabla VII nº5. Espectro RMN, tabla VII - nº5.

Acido 1-amino-2-(3,4-metiléndioxifenil)-ciclopropanocarboxílico

Preparado por hidrólisis alcalina de la 1-(3,4-metiléndioxifenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)-hept-4-en-7-ona. Láminas brillantes. Recristalizado de agua, p.f.=158-9°C. Rdt 75%.

Espectro IR, tabla VII nº6. Espectro RMN, tabla VIII - nº6.

Acido 1-amino-2-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-ciclopropanocarboxílico

Preparado por hidrólisis alcalina de la 1-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro(2,4)hept-4-en-7-ona. En este caso la hidrólisis se hace alrededor de 0°C y bajo corriente de nitrógeno. Al cabo de 5 h de agitación de la mezcla, se evapora el etanol a vacío hasta sequedad - sin calentar. El residuo se disuelve en agua (solución amarilla). La solución se lleva a pH=1 con HCl conc. Se trata con carbón activo. Se extraen con éter impurezas de color amarillo. Se lleva a pH 7 por adición de una solución concentrada de  $K_2CO_3$  y por enfriamiento cristaliza un producto blanco - que se filtra y se seca. Se recristaliza de agua, p.f.=169-70°C. Rdt 33%.

Espectro IR, tabla VII nº7. Espectro RMN, tabla VII - nº7.

Acido 1-amino-2-(3-metoxifenil)-ciclopropanocarboxílico

Preparado por hidrólisis alcalina de la 1-(3-metoxifenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona. Producto blanco. Recristalizado de agua, p.f.=149-50°C. Rdt 35%.

Espectro IR, tabla VII nº8. Espectro RMN, tabla VIII - nº8.

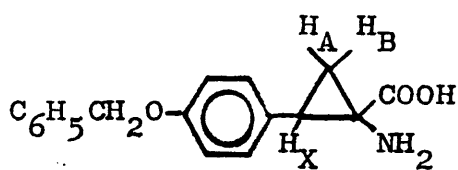
Hidrólisis básica de 1-(4-benciloxifenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

La hidrólisis se hace según el método general (pg. 107), precipitando en medio ácido un sólido blanco que no se redissuelve al bajar el pH. Este producto se filtra, se lava con etanol y después con éter y se recristaliza de dimetilformamida, p.f.=187-9°C. Rdt 71%

Espectro IR (BrK)

3000-2750  $\text{cm}^{-1}$  (b.a.), tensión N-H; 1620  $\text{cm}^{-1}$  (f), banda I; 1575  $\text{cm}^{-1}$  (f), deformaciones del N-H; 1520  $\text{cm}^{-1}$  (f), grupo carboxilato ionizado; 1545  $\text{cm}^{-1}$  (f), tensión C-O; 740, 690  $\text{cm}^{-1}$  (m), monosustitución aromática; 830  $\text{cm}^{-1}$  (d), 1,4-disustitución aromática.

Espectro RMN ((D<sub>2</sub>O + KOH)-DDS)



$\delta=6.88$	s	5 H	arom.
$\delta=6.7$	m	3 H	arom.
$\delta=4.49$	s	2 H	O-CH <sub>2</sub>
$\delta=2.5$	t.d	$J_{XA}=9.3$ $J_{XB}=7.3$	1 H (X)
$\delta=1.6$	c	$J_{AX}=9.3$ $J_{AB}=-5.3$	1 H (A)
$\delta=0.91$	c	$J_{BX}=7.3$ $J_{BA}=-5.3$	1 H (B)

Espectro de masas: m/e=283 (M<sup>+</sup>); m/e=265 (M<sup>+</sup>-18); m/e=91

Hidrólisis alcalina de 1-(4-benciloxifenil)-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

La hidrólisis se hace según el método general (pg.108), precipitando en medio ácido un sólido blanco que no se redissuelve al disminuir el pH. Este producto se filtra, se lava repetidas veces con agua y se seca. Recristalizado de bence

no-éter de petróleo. p.f.=142-3°C. Rdt 86%.

Análisis, tabla XII nº6. Los espectros IR y RMN del producto, sugieren que se trata de una mezcla de los ácidos isómeros posibles por simple apertura del anillo de tiazolo na: los ácidos 1-(benciloxitiocarbónilamino)-2-(4-benciloxifenil)-ciclopropanocarboxílico y 1-(benciloxicarbonilamino)-2-(4-benciloxifenil)-ciclopropanocarboxílico. Que esto era así, se confirmó desulfurando la mezcla con Ag<sub>2</sub>O según el método A (pg. 106), lo que condujo a un producto blanco nuevo, con p.f.=182-4°C (de benceno), que se identificó como ácido 1-benciloxicarbonilamino-2-(4-benciloxifenil)-ciclopropanocarboxílico. Análisis, tabla XII nº7. Espectro IR tabla XIII nº3. Espectro RMN, tabla XIV nº3.

Hidrólisis alcalina de 1-(4-nitrofenil)-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

La hidrólisis se realizó por el procedimiento general para los benciloxiderivados (ver pg. 108), pero el precipitado obtenido en la precipitación isoeléctrica, resultó ser un producto negruzco intratable, que se abandonó.

Hidrólisis alcalina de 1-(3 ó 4-acetoxifenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas

Se hizo según el procedimiento general de hidrólisis para los benciltioderivados (pg. 107). En el proceso de hidrólisis, la solución se coloreó de amarillo intenso, no ob<sub>u</sub>teniéndose ningún precipitado de la misma. Se evaporó el di<sub>u</sub>solvente a vacío hasta sequedad y se obtuvo un producto oscuro resinoso intratable, que se abandonó.

Hidrólisis alcalina de 1-(3 ó 4-acetoxifenil)-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas

Se realizó según el método general de hidrólisis para los benciloxiderivados (pg. 108). Al calentar la solución bá<sub>u</sub>sica, tomó color oscuro. Al enfriar precipitó un sólido ama<sub>u</sub>rillo que, una vez filtrado, se disolvió en agua, pero que no

reprecipitó hacia pH=6.5. Se evaporó el disolvente hasta se quedad y se obtuvo un residuo negruzco intratable que se abandonó.

c) Hidrólisis básica de las 1-(acetoxifenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas: Hidrocloruros de los ácidos 1-amino-2-(hidroxifenil)-ciclopropanocarboxílicos

Método A

A una disolución de KOH en agua (3 g en 20 ml) se agregan 2 g del correspondiente ciclopropilderivado disuelto en la mínima cantidad de dioxano. La mezcla se mantiene agitando a temperatura ambiente y bajo corriente de nitrógeno. Al cabo de 2 h, se elimina el disolvente orgánico por evaporación en una bomba de vacío, y el agua por liofilización. El residuo se disuelve en la mínima cantidad de agua, y se acidula con HCl conc. Se agita con carbón activo y se filtra. La solución se extrae repetidas veces con éter, se recoge la fase acuosa y se evapora el agua hasta sequedad. El residuo se extrae repetidas veces con etanol, se evapora éste a vacío hasta sequedad y se obtiene el hidrocloruro del correspondiente aminoácido. Estos hidrocloruros no suelen cristalizar bien y son normalmente higroscópicos, por lo cual no pudieron obtenerse análisis elementales satisfactorios.

Método B

A una disolución de KOH en etanol (3 g en 20 ml) se agregan 2 g del correspondiente espiroderivado disueltos en 20 ml de etanol. La mezcla se tiene agitando durante 4-5 h a una temperatura no superior a 20°C, y bajo corriente de nitrógeno. La solución se acidula con HCl conc. (unos 4 ml) y el ClK formado se elimina por filtración. Se evapora el disolvente a vacío, y el residuo se disuelve en agua. La fase acuosa se extrae repetidamente con éter, reuniendo los -

extractos etéreos. La fase acuosa se evapora a sequedad con ayuda de una mezcla de etanol-benceno, obteniéndose como residuo el hidrocioruro del ciclopropilaminoácido correspondiente.

De la fase etérea, después de eliminar a vacío casi todo el disolvente, cristaliza, según los casos, el producto de hidrólisis parcial, el producto de ciclación, o ambos, que se detallarán en cada caso.

Siguiendo uno de estos métodos generales (o ambos), se prepararon los siguientes compuestos:

Hidrocioruro del ácido 1-amino-2-(4-hidroxifenil)-ciclopropanocarboxílico

Preparado a partir de la 1-(4-acetoxifenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona por los métodos A y B. Producto amarillo anaranjado. Recristalizado de etanol-éter. Su p.f. no se pudo determinar por ser muy higroscópico. Rds: 64%, método A; 35% método B.

Análisis, tabla IX nº10; Espectro IR, tabla X nº7. Espectro RMN, tabla XI nº8.

Hidrocioruro del ácido 1-amino-2-(3-metoxi-4-hidroxifenil)-ciclopropanocarboxílico

Preparado a partir de 1-(3-metoxi-4-acetoxifenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona por los métodos A y B. Producto amarillo crema. Recristalizado de acetonitrilo con unas gotas de etanol, p.f.=189-90°C. Rds: 50% método A; 22% método B.

Análisis, tabla IX nº8. Espectro IR, tabla X nº9. Espectro RMN, tabla XI nº11.

Hidrólisis básica de 1-(3-acetoxifenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)-hept-4-en-7-ona

En la hidrólisis básica de este ciclopropilderivado según los métodos generales A y B se obtiene, además del hidro

cloruro del ácido 1-amino-2-(3-hidroxifenil)-ciclopropano-carboxílico, otro producto identificado como el ácido (1-tio carbonil-3,4-metilén-(6-hidroxitetrahidroisoquinoleín))-3-carboxílico. Cuando la reacción de hidrólisis se realiza en medio etanólico (según el método general B) y a baja temperatura, resulta en gran proporción el ester etílico del ácido formado al abrirse el anillo de tiazolona del ciclopropano derivado que se trata de hidrolizar. Las características y propiedades de estos compuestos se resumen a continuación:

a) Hidrocloruro del ácido 1-amino-2-(3-hidroxifenil)-ciclopropanocarboxílico

Producto amarillento. Su p.f. no se pudo determinar por ser muy higroscópico. Rdts: 40% método A; 15% método B.

Espectro IR, tabla X nº11. Espectro RMN, tabla XI nº9.

b) Acido 1-tiocarbonil-3,4-metilén-6-hidroxitetrahidroisoquinoleín -3-carboxílico

Producto que cristaliza de los extractos etéreos resultantes de lavar la solución acuosa ácida en la que se encuentra el hidrocloruro, al seguir los métodos generales A ó B.

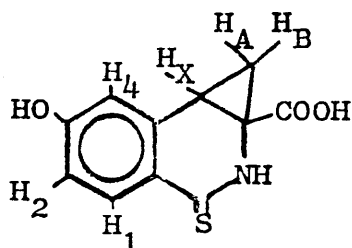
Sólido amarillo, que recristaliza de etanol, con p.f.=195-6°C. Rdt 25%

Análisis para  $C_{11}H_9O_3NS$

Calculado: 56.17% C; 3.85% H; 5.95% N

Hallado : 55.93% C; 4.08% H; 5.77% N

Espectro RMN ( $(CD_3)_2SO-TMS$ )



$\delta = 10.13$  s 1 H (COOH)

$\delta = 8.58$  d  $J_{H_1 H_2} = 8.6$  Hz 1 H ( $H_1$ )

$\delta = 6.98$  d  $J_{H_4 H_2} = 3.02$  Hz 1 H ( $H_4$ )

$$\delta = 6.83 \quad c \quad J_{H_2H_4} = 2.6 \text{ Hz}, \quad J_{H_2H_1} = 8.6 \text{ Hz} \quad 1 \text{ H (H}_2\text{)}$$

$$\delta = 2.99 \quad c \quad J_{H_XH_A} = 9.6 \text{ Hz}, \quad J_{H_XH_B} = 6.6 \text{ Hz} \quad 1 \text{ H (H}_X\text{)}$$

$$\delta = 2.07 \quad c \quad J_{H_AH_X} = 9.6 \text{ Hz}, \quad J_{H_AH_B} = -4.6 \text{ Hz} \quad 1 \text{ H (H}_A\text{)}$$

$$\delta = 0.68 \quad c \quad J_{H_BH_X} = 6.6 \text{ Hz}, \quad J_{H_BH_A} = -4.6 \text{ Hz} \quad 1 \text{ H (H}_B\text{)}$$

c) De los extractos etéreos de lavado de la solución acuosa (método general B), se separa un producto blanco con un Rdt del 30% y que recristalizado de etanol da p.f.=116-9°C. Según su análisis (tabla XII n° 9), espectro IR (tabla XIII n° 8), espectro RMN (tabla XIV n° 5) el producto parece ser una mezcla de los ésteres etílicos de los ácidos 1-benciltiocarbonilamino-2-(3-hidroxifenil)-ciclopropanocarboniltilíco y 1-bencilditiocarbonilamino-2-(3-hidroxifenil)-ciclopropanocarboxílico.

Hidrólisis básica de 1-(3-acetoxi-4-metoxifenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona

En la hidrólisis de este compuesto según el método general B, se obtienen fundamentalmente los dos productos que a continuación se describen:

a) Hidrocioruro del ácido 1-amino-2-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-ciclopropanocarboxílico

Producto naranja. Su p.f. no se pudo determinar por ser muy higroscópico. Rdt 25%.

Espectro IR, tabla X n° 12. Espectro RMN, tabla XI n° 10.

b) Acido 1-tiocarbonil-3,4-metilén-(6-hidroxi-7-metoxi-tetrahidroisocuinoleín)-3-carboxílico

Producto que cristaliza de los extractos etéreos resultantes de lavar la solución acuosa ácida en la que se encuentra el hidrocioruro. Producto blanco amarillento. Recristalizado de etanol, p.f.=225°C. Rdt 30%.

Análisis para C<sub>12</sub>H<sub>11</sub>O<sub>4</sub>NS

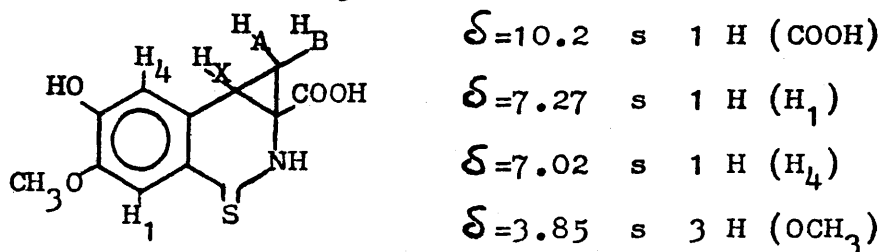
Calculado: 54.34% C; 4.18% H; 5.28% N; 12.06% S

Hallado : 54.14% C; 4.24% H; 4.98% N; 11.52% S

Espectro IR (BrK)

3280 cm<sup>-1</sup> (b.a.), tensión N-H; 16985 cm<sup>-1</sup> (f), tensión C=O; 1580 cm<sup>-1</sup> (f), deformación N-H.

Espectro RMN ((CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO-TMS)



$\delta=2.96$  c  $J_{XA}=9.6$  Hz,  $J_{XB}=6.6$  Hz 1 H (H<sub>X</sub>)

$\delta=2.02$  c  $J_{AX}=9.6$  Hz,  $J_{AB}=-4.6$  Hz 1 H (H<sub>A</sub>)

$\delta=0.58$  c  $J_{BX}=6.6$  Hz,  $J_{BA}=-4.6$  Hz 1 H (H<sub>B</sub>)

Espectro de masas

m/e: 266 (M<sup>+</sup>); 221 (M<sup>+</sup>-COOH); 194; 178; 162 (194-S); -  
150 (194-CS)

Hidrólisis de 1-fenil-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4) hept-4-en-7-ona con tampón BO<sub>3</sub>H<sub>3</sub>/NaOH (70, 71)

Método A

1 g del espiroderivado se añade sobre una mezcla de 20 ml de tampón BO<sub>3</sub>H<sub>3</sub>/NaOH (0.15 M, pH=12) y 10 ml de etanol absoluto. Se tiene dos días agitando. En todo momento hay un sólido en suspensión que se filtra y recristaliza de etanol, p.f.=112-7°C. Según su análisis (tabla XII n° 8), espectro IR (tabla XIII n° 7) y espectro RMN (tabla XIV n° 4), el producto parece ser una mezcla de los ésteres etílicos de los ácidos 1-benciltiocarbonilamino-2-fenil-ciclopropano carboniltiólico y 1-bencilditocarbonilamino-2-fenil-ciclopropanocarboxílico.

Método B

A una disolución de 1 g del ciclopropilderivado en 25 ml de dioxano se agregan 25 ml de tampón  $\text{BO}_3\text{H}_3/\text{NaOH}$  (0.15M, pH=12). La mezcla se mantiene bajo agitación durante tres días. Se evapora el disolvente orgánico a vacío. Se filtra algún resto insoluble, y la disolución se lleva a pH=1 con HCl al 50%. Se evapora el disolvente a vacío, y el residuo se extrae con etanol. Se elimina nuevamente el disolvente a vacío y el residuo se extrae repetidas veces con acetato de etilo y con éter, hasta eliminar el ácido bórico. El residuo sólido se extrae con etanol caliente y se filtra el resto sólido que se desecha. Se elimina el etanol y el residuo se recristaliza de etanol-éter para dar cristales de p.f.=207-8°C de hidrocloreuro del ácido 1-amino-2-fenil-ciclopropanocarboxílico, idénticos a los obtenidos por otro procedimiento (ver pg.120).

El curso de la hidrólisis se puede seguir, tomando muestras alícuotas de la mezcla de reacción con el tiempo, y analizando colorimétricamente la formación de grupos amino con ninhidrina por cromatografía en papel.

Intentos de obtener el hidrocloreuro del ácido 1-amino-2-(3,4-dihidroxifenil)-ciclopropanocarboxílico

a) 1 g de 1-(3,4-diacetoxifenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona se sometió a hidrólisis con tampón de borato-dioxano, según el método B descrito anteriormente para la hidrólisis del análogo fenílico. El residuo obtenido al final, después de eliminar el etanol, era una tierra negruzca que hubo que descartar.

b) 1 g de 1-(3,4-diacetoxifenil)-5-benciltio-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona, en cada caso, se sometió a hidrólisis con KOH según el método general A (pg. 113) o con potasa en etanol, según el método general B (pg. 113).

En una de las experiencias por el método A, se obtuvo un 21% de rendimiento de un producto oscuro y muy higroscópico, cuyo espectro RMN (tabla XI, nº13) sugería que se trataba del hidrocioruro del aminoácido deseado. No obstante, reiterados intentos de repetir la preparación fueron infructuosos, conduciendo a tierras negras intratables.

3.- Hidrólisis ácida de 1-fenil-5-benciloxi-6-tio-4-aza-  
-espiro-(2,4)hept-4-en-7-ona: hidrocioruro de la 2-a-  
mino-4-fenil- $\gamma$ -butirolactona

2 g del espiro-derivado se suspenden en 20 ml de HCl 2N. Se añade etanol hasta disolución completa del espiroderivado. La disolución se refluye durante dos horas. Se elimina todo el disolvente a vacío y el residuo se recristaliza de etanol, para dar cristales blancos con p.f.=243-4°C.

Análisis, tabla XV nº1. Espectro IR, tabla XVI nº1. Espectro RMN, tabla XVII nº1.

IV. TRATAMIENTO CON ACIDOS INORGANICOS DE LOS ACIDOS 1-AMI-  
NO-2-ARIL-CICLOPROPANOCARBOXILICOS

1.- Hidrocloruros de los ácidos 1-amino-2-aryl-ciclopropano-  
carboxílicos

Método general

0.5 g del aminoácido correspondiente suspendidos en unos 20 ml de una solución etanol-clorhídrico (30%), se calientan a ebullición hasta disolución total. La solución se filtra y se evapora el disolvente a vacío. El residuo se recrystaliza de un disolvente apropiado.

Según este método general se han preparado los siguientes hidrocloruros:

Hidrocloruro del ácido 1-amino-2-fenil-ciclopropanocarboxí-  
lico

Preparado a partir del ácido 1-amino-2-fenil-ciclopropanocarboxílico. Producto blanco. Recrystaliza de etanol-éter, p.f.=207-8°C.

Análisis, tabla IX nº1. Espectro IR, tabla X nº1. Espectro RMN, tablaXI nº1.

Hidrocloruro del ácido 1-amino-2-(3-metoxifenil)-ciclopropa-  
nocarboxílico

Preparado a partir del ácido 1-amino-2-(3-metoxifenil)-ciclopropanocarboxílico. Producto blanco. Recrystalizado de etanol-éter, p.f.=176-7°C.

Análisis, tabla IX nº9. Espectro IR, tabla X nº10. Espectro RMN, tabla XI nº12.

Hidrocloruro del ácido 1-amino-2-(4-metoxifenil)-ciclopropa-  
nocarboxílico

Preparado a partir del ácido 1-amino-2-(4-metoxifenil)-ciclopropanocarboxílico, según el método general. Producto

blanco. Recristalizado de etanol, p.f.=198-9°C.

Análisis, tabla IX nº2. Espectro IR, tabla X nº2. Espectro RMN, tabla XI nº2.

Hidrocioruro del ácido 1-amino-2-(4-tolil)-ciclopropanocarboxílico

Preparado a partir del ácido 1-amino-2-(4-tolil)-ciclopropanocarboxílico. Producto blanco. Recristalizado de etanol-éter, p.f.=191-2°C.

Análisis, tabla IX nº3. Espectro IR, tabla X nº3. Espectro RMN, tabla XI nº3.

Hidrocioruro del ácido 1-amino-2-(4-clorofenil)-ciclopropanocarboxílico

Preparado a partir del ácido 1-amino-2-(4-clorofenil)-ciclopropanocarboxílico. Agujas blancas. Recristalizado de etanol-éter, p.f.=190-1°C.

Análisis, tabla IX nº4. Espectro IR, tabla X nº4. Espectro RMN, tabla XI nº4.

Hidrocioruro del ácido 1-amino-2-(3-clorofenil)-ciclopropanocarboxílico

Preparado a partir del ácido 1-amino-2-(3-clorofenil)-ciclopropanocarboxílico. Agujas blancas. Recristalizado de etanol-éter, p.f.=172-5°C.

Análisis, tabla IX nº5. Espectro IR, tabla X nº5. Espectro RMN, tabla XI nº5.

Hidrocioruro del ácido 1-amino-2-(4-fluorofenil)-ciclopropanocarboxílico

Preparado a partir del ácido 1-amino-2-(4-fluorofenil)-ciclopropanocarboxílico. Producto blanco. Recristalizado de etanol-éter, p.f.=212-3°C.

Análisis, tabla IX nº6. Espectro IR, tabla X nº6. Espectro RMN, tabla XI nº6.

Hidrocloruro del ácido 1-amino-2-(3,4-metiléndioxifenil)-ciclopropanocarboxílico

Preparado a partir del ácido 1-amino-2-(3,4-metiléndioxifenil)-ciclopropanocarboxílico. Producto amarillo claro. Recristalizado de acetonitrilo con unas gotas de agua, - p.f.=197-8°C.

Análisis, tabla IX nº7. Espectro IR, tabla X nº6. Espectro RMN tabla XI nº7.

Tratamiento con etanol-clorhídrico de 1-amino-2-(4-benciloxifenil)-ciclopropanocarboxílico

Se procedió según el método general, no consiguiendo en este caso la disolución del aminoácido en medio ácido, no pudiendo obtenerse el correspondiente hidrocloruro.

2.- Resistencia a los ácidos inorgánicos del ácido 1-amino-2-fenil-ciclopropanocarboxílico

a) Una suspensión de 0.5 g de 1-amino-1-carboxi-2-fenil-ciclopropano en 15 ml de HCl al 50% se refluye durante 45 minutos. Cuando el precipitado se ha disuelto totalmente, se filtra y elimina el disolvente a vacío. El residuo se recristaliza de etanol-éter. Producto blanco de p.f.=207-8°C. Su espectro IR coincide con el del hidrocloruro de 1-amino-1-carboxi-2-fenil-ciclopropano descrito en la pg. 120.

b) Una suspensión de 0.5 g de 1-amino-1-carboxi-2-fenil-ciclopropano en 15 ml de una disolución BrH/AcH al 40% se refluye durante 1 h. El producto no se llega a disolver totalmente. Se deja toda la noche en el refrigerador, cristaliza un producto blanco que se lava con éter repetidas veces, - p.f.=214-6°C, y que se identifica como el hidrobromuro del ácido 1-amino-2-fenil-ciclopropanocarboxílico.

Análisis para  $C_{10}H_{12}O_2NBr$

Calculado: 46.51% C; 4.68% H; 5.42% N

Hallado : 46.53% C; 4.63% H; 5.52% N

Espectro IR

3100-2860 (b.a.)  $\text{cm}^{-1}$ , tensión N-H; 1730  $\text{cm}^{-1}$  (f), tensión C=O; 1585  $\text{cm}^{-1}$  (m), tensión C=C y deformación N-H; - 1180 (f)  $\text{cm}^{-1}$ , tensión C-O.

Espectro RMN

Coincide con el del hidrocloreuro del mismo aminoácido.  
(tabla XI nº1).

V. TRATAMIENTO DE LOS ACIDOS 1-AMINO-2-METOXIARIL-CICLOPROPANOCARBOXILICOS CON AGENTES DESMETILANTES

1.- Tratamiento con BrH/AcH

Método general

Una suspensión de 0.5 g del correspondiente ácido 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílico en 20 ml de BrH/AcH al 40% se calienta en baño de agua durante 1 h y bajo corriente de nitrógeno. Por enfriamiento cristaliza un producto blanco que se filtra, lava con éter y caracteriza en cada caso.

Siguiendo este método general se han obtenido los siguientes compuestos:

Hidrobromuro de 2-amino-4-(4-metoxifenil)- $\gamma$ -butirolactona

Obtenido en la reacción del ácido 1-amino-2-(4-metoxifenil)-ciclopropanocarboxílico con BrH/AcH. Agujas blancas. Recristalizado de etanol, p.f.=193-4°C.

Análisis, tabla XV nº2. Espectro IR, tabla XVI nº2. Espectro RMN, tabla XVII nº2.

Hidrobromuro de 2-amino-4-(3,4-metiléndioxifenil)- $\gamma$ -butirolactona

Obtenido en la reacción del ácido 1-amino-2-(3,4-metiléndioxifenil)-ciclopropanocarboxílico con BrH/AcH a temperatura ambiente durante 24 h. Producto blanco. Recristalizado de etanol, p.f.=205-6°C.

Análisis, tabla XV nº3. Espectro IR, tabla XVI nº4. Espectro RMN, tabla XVII nº5.

Reacción del ácido 1-amino-2-(3-metoxifenil)-ciclopropanocarboxílico con BrH/AcH

Se procede según el método general. En este caso, en la solución una vez enfriada, no aparece precipitado alguno. Se

evapora el disolvente a sequedad, obteniéndose un residuo que se identificó a través de su espectro RMN, idéntico al de el hidrocioruro del ácido 1-amino-2-(3-metoxifenil)-ciclopropanocarboxílico (ver pg. 120 y tabla XI nº12). Nuevo tratamiento de este producto con BrH/AcH durante dos horas a reflujo, condujo a un compuesto que se identificó por su espectro RMN como el hidrobromuro del ácido 1-amino-2-(3-hidroxifenil)-ciclopropanocarboxílico, idéntico al del hidrocioruro del mismo aminoácido (ver pg. 115 y tabla XI nº9).

## 2.- Tratamiento con Br<sub>3</sub>B

Método general. Basado en (72)

0.5 g del ácido 1-amino-2-aryl-ciclopropanocarboxílico se suspenden en 30 ml de Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>. A la suspensión, enfriada a -10°C (nieve carbónica-acetona), se añaden gota a gota, con agitación y bajo corriente de nitrógeno, 3 ml de Br<sub>3</sub>B disueltos en 10 ml de Cl<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>. Se agita durante 1 h a -10°C y 2 h más a 25°C. Se añaden 40 ml de agua, gota a gota y sin dejar de agitar. Se recoge la fase acuosa (parte superior) y la fase orgánica se lava repetidas veces con agua, recogiendo los extractos acuosos que se unen a los anteriores. La solución acuosa se lleva a sequedad a vacío, o mejor liofilizándola. El residuo sólido se extrae repetidamente con acetato de etilo para eliminar el ácido bórico formado en la reacción y el sólido residual se recristaliza del disolvente apropiado.

De este modo se han obtenido los compuestos siguientes:

### Hidrobromuro de 2-amino-4-(4-hidroxifenil)-γ-butirolactona

Obtenido en la reacción del ácido 1-amino-2-(4-metoxifenil)-ciclopropanocarboxílico. Producto blanco. Recristalizado de etanol-éter.

Espectro IR, tabla XVI nº3. Espectro RMN, tabla XVII - nº3.

Hidrobromuro de 2-amino-4-(3-metoxifenil)- $\gamma$ -butirolactona

Obtenido en la reacción del ácido 1-amino-2-(3-hidroxifenil)-ciclopropanocarboxílico con  $\text{Br}_3\text{B}$ . Identificado por su espectro RMN, (tabla VII nº4).

Reacción del ácido 1-amino-2-(3,4-metilendioxifenil)-ciclopropanocarboxílico con  $\text{Br}_3\text{B}$

0.5 g del ácido 1-amino-2-(3,4-metilendioxifenil)-ciclopropanocarboxílico se trataron con 3 ml de  $\text{Br}_3\text{B}$  tal como se describió en el método general. El residuo obtenido después de finalizar la reacción, resultó ser un producto negruzco intratable que se desechó.

VI. PREPARACION DE LOS BENZOILDERIVADOS DE LOS ESTERES METALICOS DE LOS ACIDOS 1-AMINO-2-ARIL-CICLOPROPANOCARBOXILICOS

Método general

a) Acidos 1-benzamido-2-aril-ciclopropanocarboxílicos

Se añaden 0.27 g de cloruro de benzoílo sobre 0.5 g del correspondiente ácido 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílico, disueltos en una solución de bicarbonato sódico (1.5 g en 13 ml de H<sub>2</sub>O). La mezcla se agita enérgicamente en un matraz abierto, hasta que solamente quede un ligero olor a cloruro de benzoílo. Se filtra la disolución, se acidifica con HCl conc. y se enfría. El producto que precipita se recoge por filtración, se lava bien con agua y se recristaliza de etanol. Los productos brutos obtenidos se utilizan sin más en el paso siguiente (b).

b) Esteres metílicos de los ácidos 1-benzamido-2-aril-ciclopropanocarboxílicos

A una suspensión en éter del derivado benzoilado obtenido en a) se añade, bajo agitación, solución etérea de diazometano, hasta que cesa el desprendimiento de nitrógeno y persista el color amarillo. El ester metílico formado suele ser insoluble y precipita o se recupera eliminando el éter. El producto bruto obtenido se recristaliza de metanol.

Siguiendo este método se han preparado los siguientes compuestos:

(Z)-1-benzamido-2-fenil-ciclopropanocarboxilato de metilo

Obtenido a partir del ácido 1-amino-2-fenil-ciclopropanocarboxílico según el método general. Producto blanco de p.f.=164-5°C. Los datos espectroanalíticos coinciden con los de una muestra auténtica obtenida de (Z)-1-benzoilamino-2-fenil-ciclopropanocarboxilato de metilo, obtenida (51) por metanolisis de la (Z)-4-bencilidén-2-feniloxazolona.

Análisis, tabla XVIII nº1. Espectro IR, tabla XIX nº1.  
Espectro RMN, tabla XX nº1.

(Z)-1-benzamido-2-(4-metoxifenil)-ciclopropanocarboxilato de metilo

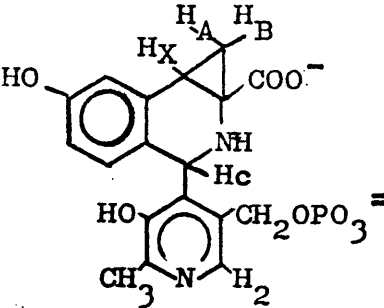
Obtenido a partir del ácido 1-amino-2-(4-metoxifenil)-  
-ciclopropanocarboxílico. Producto blanco de p.f.=174-5°C.

Análisis, tabla XVIII nº2. Espectro IR, tabla XIX nº2. -  
Espectro RMN, tabla XX nº2. Todos estos datos coinciden con  
los de una muestra auténtica de Z-1-benzoilamino-2-(4-meto-  
xifenil)-ciclopropanocarboxilato de metilo, obtenida por me-  
tanólisis de la (Z)-4-(4-metoxibencilidén)-2-feniloxazolona -  
(51).

VII. CONDENSACION DEL HIDROCLORURO DE 1-AMINO-2-(3-HIDROXI-FENIL)-CICLOPROPANOCARBOXILICO CON FOSFATO DE PIRIDOXAL

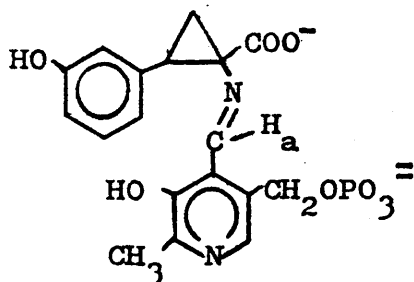
Se disuelven 0.139 g (0.6 mM) del hidrocloreuro del ácido 1-amino-2-(3-hidroxifenil)-ciclopropanocarboxílico en 10-15 ml de etanol absoluto. A la solución se añaden 2.4 mM de KOH (0.24 ml de KOH 10 M). Se agita a temperatura ambiente y se filtra para eliminar el ClK formado. A la disolución se añaden 0.159 g (0.6 mM) de piridoxal-5'-fosfato monohidratado, la cual toma un color amarillo fuerte. Se agita a temperatura ambiente y enseguida se disuelve en su totalidad. Pronto aparece una suspensión de partículas blancas en el medio. Se agita todavía una hora más. Se recoge el sólido por filtración y la solución se evapora a sequedad. El precipitado es un sólido blanco (60 mg) de p.f.=225°C y que de acuerdo con su espectro de RMN se identifica como el ácido 1-(4'-piridoxil-5'-fosfato)-3,4-metilén-(6-hidroxi-tetrahidroisoquinoleín)-3-carboxílico (sal tripotásica).

Espectro RMN (D<sub>2</sub>O + KOH y (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO)

	$\delta = 7.78$ s	1 H (H <sub>2</sub> )
	$\delta = 6.98$ m	1 H arom.
	$\delta = 6.42$ m	2 H arom.
	$\delta = 5.65$ s	1 H (H <sub>c</sub> )
	$\delta = 5.0$ s	2 H (CH <sub>2</sub> -OPO <sub>3</sub> H <sub>2</sub> )
	$\delta = 4.89$ s	
$\delta = 2.8$ cd	$J_{XA} = 10$ Hz, $J_{XB} = 6.6$ Hz	1 H (H <sub>X</sub> )
$\delta = 1.3$ cd	$J_{BX} = 6.6$ Hz, $J_{BA} = -5.3$ Hz	1 H (H <sub>B</sub> )
$\delta = 2.03$ cd	$J_{AX} = 10$ Hz, $J_{AB} = -5.3$ Hz	1 H (H <sub>A</sub> )

El residuo de evaporar el etanol a sequedad, (200 mg), es un sólido amarillo higroscópico cuyo espectro RMN indica que se trata de una mezcla en la que predomina la base de Schiff impurificada por el producto anterior y por restos

de piridoxal-5'-fosfato.



El espectro RMN ( $D_2O$ ) de la mezcla es muy complejo, pero se distingue claramente un singlete a  $\delta = 8.0$  correspondiente al protón  $H_a$  de la base de Schiff. Los intentos de purificar esta base de Schiff fueron infructuosos, porque hidroliza fácilmente y a su vez cicla al derivado de tetrahidroisiquinoleína, antes mencionado.

Acido 1-(4'-piridoxil-5'-fosfato)-3,4-metilén-6-hidroxi-tetrahidroisiquinoleín-3-carboxílico

Preparación basada en (73) para la m-tirosina.

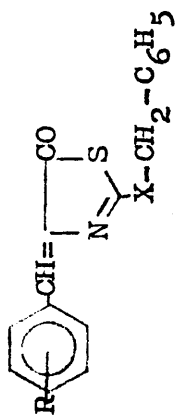
Se disuelven 0.139 g (0.6 mM) del hidrocloreuro de 1-amino-2-(3-hidroxifenil)-ciclopropanocarboxílico en una mínima cantidad de agua. Se añaden 1.2 mM de KOH (0.12 ml de KOH 10 M). La solución se ajusta a pH=7 y se filtra. Se disuelven 0.265 mgs de piridoxal-5'-fosfato monohidratado en la mínima cantidad de agua y se le añaden 1.2 mM de KOH. La solución se filtra y se vierte sobre la solución del hidrocloreuro. La solución clara (amarilla) se calienta en baño de agua durante una hora. La mezcla se oscurece. Se deja enfriar y se acidula con HCl hasta pH  $\approx 3$ , con lo que precipita un sólido blanco que se filtra y se purifica por disolución en medio básico y reprecipitación en medio ácido. p.f.=225°C. Este compuesto se identificó a través de su espectro de RMN idéntico al descrito en la página anterior.

PARTE III

B- TABLAS DE RESULTADOS ANALITICOS Y DATOS ESPECTROSCOPICOS  
IR Y RMN

TABLA I

2-benciltio(o bencilloxi)-4-ariidén-5(4H)-tlazolonas



Nº	X	R	P.F°C	Fórmula	Calculado					Hallado				
					C	H	N	S	C	H	N	S		
1	S	H	121-2	C <sub>17</sub> H <sub>13</sub> ONS <sub>2</sub>	65.5	4.2	4.5	4.5	65.2	4.1	4.7	4.7		
2	S	4-OCH <sub>3</sub>	124-5	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub> NS <sub>2</sub>	63.34	4.42	4.10	18.72	63.62	4.49	4.36	19.02		
3	S	4-NO <sub>2</sub>	177-8	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> N <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	57.30	3.39	7.86	17.96	57.36	3.45	7.84	18.25		
4	S	4-CH <sub>3</sub>	104-5	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> ONS <sub>2</sub>	66.44	4.64	4.36	17.60	66.30	4.62	4.14	17.84		
5	S	4-Cl	127-8	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> ONS <sub>2</sub> Cl	59.06	3.47	4.05	18.52	58.87	3.48	3.87	18.49		
6	S	3-Cl	124-6	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> ONS <sub>2</sub> Cl	59.06	3.47	4.05	18.52	59.36	3.56	4.06	17.74		
7	S	4-F	125-6	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> ONS <sub>2</sub> F	62.01	3.65	4.26	19.45	62.08	3.67	4.17	20.11		
8	S	3,4-O-CH <sub>2</sub> -O-	162-4	C <sub>18</sub> H <sub>13</sub> O <sub>3</sub> NS <sub>2</sub>	60.84	3.68	3.94	18.00	61.02	3.95	3.98	18.30		
9	S	4-OCOCH <sub>3</sub>	138-9	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub> NS <sub>2</sub>	61.78	4.09	3.79	17.32	61.29	4.11	4.08	17.91		
10	S	3-OCOCH <sub>3</sub>	134-5	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub> NS <sub>2</sub>	61.78	4.09	3.79	17.32	62.13	4.17	3.87	17.60		
11	S	3-OCOCH <sub>3</sub> ,4-OCH <sub>3</sub>	163-4	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> O <sub>4</sub> NS <sub>2</sub>	60.14	4.29	3.50	16.04	60.17	4.56	3.51	16.13		

Nº	X	R	P. Fº C	Fórmula	Calculado					Hallado				
					C	H	N	S	C	H	N	S		
12	S	3-OCH <sub>3</sub> , 4-OCOCH <sub>3</sub>	103-4	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> O <sub>4</sub> NS <sub>2</sub>	60.14	4.29	3.50	16.04	60.38	4.22	3.47	15.78		
13	S	3,4-OCOCH <sub>3</sub>	139-0	C <sub>21</sub> H <sub>17</sub> O <sub>5</sub> NS <sub>2</sub>	59.01	4.00	3.27	14.99	58.85	4.01	3.46	14.81		
14	S	3-OCH <sub>3</sub>	90-1	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub> NS <sub>2</sub>	63.33	4.43	4.10	18.72	63.34	4.62	4.18	18.57		
15	S	4-OCH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	126-7	C <sub>24</sub> H <sub>19</sub> O <sub>2</sub> NS <sub>2</sub>	69.06	4.56	3.36	15.35	69.03	4.56	3.41	15.62		
16	S	4-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	150-1	C <sub>19</sub> H <sub>18</sub> ON <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	64.39	5.12	7.90	17.98	64.60	5.09	7.75	18.16		
17	S	3-(N-acetilindol)*	137-8	C <sub>21</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	64.28	4.11	7.14	16.30	63.98	3.96	7.27	16.28		
18	O	H	113-4	C <sub>17</sub> H <sub>13</sub> O <sub>2</sub> NS	68.88	4.56	4.48	11.10	69.14	4.43	4.74	10.83		
19	O	4-OCH <sub>3</sub>	112-3	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub> NS	66.22	4.89	4.37	10.00	66.45	4.64	4.30	9.83		
20	O	4-NO <sub>2</sub>	184-5	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub> S	60.12	3.18	8.46	9.29	60.00	3.55	8.23	9.40		
21	O	4-CH <sub>3</sub>	84-5	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub> NS	69.89	4.88	4.52	10.34	69.87	4.59	4.69	10.63		
22	O	4-Cl	137-8	C <sub>17</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> NSCl	61.93	3.64	4.25	9.71	62.13	3.51	4.43	9.72		
23	O	4-OCOCH <sub>3</sub>	121-2	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> NS	64.58	4.27	3.96	9.05	64.61	3.99	3.82	9.31		
24	O	3-OCOCH <sub>3</sub>	118-9	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> NS	64.58	4.27	3.96	9.05	63.77	5.11	4.13	9.19		
25	O	3,4-OCH <sub>3</sub>	112-4	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> O <sub>4</sub> NS	64.21	4.82	3.94	9.00	63.98	5.09	3.93	9.24		
26	O	4-OCH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	115-6	C <sub>24</sub> H <sub>19</sub> O <sub>3</sub> NS	71.80	4.77	3.48	8.00	72.03	4.93	3.69	8.13		
27	O	3-(N-acetilindol)*	131-2	C <sub>21</sub> H <sub>16</sub> O <sub>3</sub> N <sub>2</sub> S	67.01	4.28	7.44	8.50	66.81	4.01	7.19	8.63		
28	O	piridin-4**	99-0	C <sub>16</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> N <sub>2</sub> S	64.85	4.08	9.45	10.80	64.14	4.09	9.02	10.95		

Nº	X	R	P.F°C	Fórmula	Calculado			Hallado				
					C	H	N	S	C	H	N	S
29	S	4-OH	189-0	$C_{17}H_{13}O_2NS_2$	62.38	3.97	4.28	19.57	62.30	3.98	4.22	19.19
30	S	indolil-3**	206-7	$C_{19}H_{14}ON_2S_2$	65.14	4.00	8.00	18.28	65.38	4.07	7.84	18.56

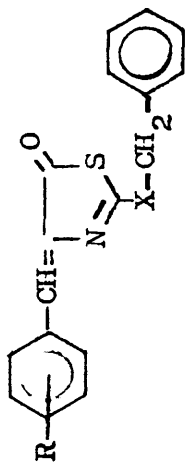
\* En este caso el núcleo aromático ha sido sustituido por un sistema de 3-(N-acetilindol)

\*\* En este caso el núcleo aromático ha sido sustituido por un sistema 4-piridínico

\*\*\* En este caso el núcleo aromático ha sido sustituido por un sistema 3-indólico

TABLA II

Absorciones IR de 2-bencilto(o benciloxi)-4-ariilidén-tiazolín-5-onas



Nº	X	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
1	S	H	1700	Tensión C=O tiazolona
			1610	" C=C exocíclico
			1485	" C=N
			735, 760	Monosustitución arom.
			710, 690	" "
2	S	4-OCH <sub>3</sub>	1695	Tensión C=O tiazolona
			1590	" C=C exocíclico
			1560	" C=N
			1480, 1510	" C=C arom.
			705	Monosustitución arom.
3	S	4-NO <sub>2</sub>	840	1,4-disustitución arom.
			1695	Tensión C=O tiazolona
			1610, 1480	" C=C y C=N
			1510	" N-O antisimétrica

TABLA II (cont.)

Nº	X	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
3	S	4-NO <sub>2</sub>	1350	Tensión N-O asimétrica
			710,740	Monosustitución arom.
			850	1,4-disustitución arom.
4	S	4-CH <sub>3</sub>	1710,1720	Tensión C=O tiazolona
			1600	" C=C exocíclico
			1490	" C=N
			710,690	Monosustitución arom.
			720	1,4-disustitución arom.
5	S	4-Cl	1700	Tensión C=O tiazolona
			1590	" C=C exocíclico
			1480	" C=N
			1610,1500	" C=C arom.
			710,750	Monosustitución arom.
			830	1,4-disustitución arom.
			6	S
1600	" C=C exocíclico			
1480	" C=N			
710,690	Monosustitución arom.			
790,750	1,3-disustitución arom.			

TABLA II (cont.)

Nº	X	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones	
7	S	4-F	1700	f	Tensión C=O tiazolona
			1600	f	" C=C exocíclico
			1480	f	" C=N
			710, 680	m	Monosustitución arom.
			840, 800	m	1,4-disustitución arom.
8	S	3,4-OCH <sub>2</sub> O-	1700	f	Tensión C=O tiazolona
			1610	f	" C=C exocíclico
			870, 810	m	1,3,4-trisustitución arom.
			765, 715	f	Monosustitución arom.
9	S	4-OCOCH <sub>3</sub>	1770	f	Tensión C=O acetato
			1710	f	" C=O tiazolona
			1600	f	" C=C exocíclico
			1510, 1500	f,m	" C=N y C=C arom.
			740, 720	m	Monosustitución arom.
10	S	3-OCOCH <sub>3</sub>	860	m	1,4-disustitución arom.
			1770	f	Tensión C=O acetato
			1710	f	" C=O tiazolona
			1615	m	" C=C exocíclico
			1590	f	" C=N
			700, 690	m	Monosustitución arom.
			910, 730	m	1,3-disustitución arom.

TABLA II (cont.)

Nº	X	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
11	S	3-OCOCH <sub>3</sub> , 4-OCH <sub>3</sub>	1765	Tensión C=O acetato
			1700	" C=O tiazolona
			1600	" C=C exocíclico
			1510, 1480	" C=N y C=C arom.
			710	Monosustitución arom.
			820	1,3,4-trisustitución arom.
12	S	3-OCH <sub>3</sub> , 4-OCOCH <sub>3</sub>	1770	Tensión C=O acetato
			1695	" C=O tiazolona
			1600, 1580	" C=C
			1515, 1490	" C=N y C=C
			710	Monosustitución arom.
			840	1,3,4-trisustitución arom.
13	S	3,4-OCOCH <sub>3</sub>	1760, 1770	Tensión C=O acetatos
			1690	" C=O tiazolona
			1600	" C=C exocíclico
			1500, 1480	" C=N y C=C arom.
			710	Monosustitución arom.
			835	3,4-disustitución arom.
14	S	3-OCH <sub>3</sub>	1710	Tensión C=O tiazolona
			1610, 1580	" C=C
			1480	" C=N
			910, 780	1,3-disustitución arom.

TABLA II (cont.)

Nº	X	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
15	S	4-OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	1700	Tensión C=O tiazolona
			1590	" C=C exocíclico
			1510, 1500	" C=N y C=C arom.
			1260	" C-O
			750, 700	Monosustitución arom.
16	S	4-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	860, 840	1,4-disustitución arom.
			1700	Tensión C=O tiazolona
			1570, 1530	" C=C y C=N
			680	Monosustitución arom.
			815	1,4-disustitución arom.
17	S	3-(N-acetilindol)	1720	Tensión C=O acetilo
			1700	" C=O tiazolona
			1610	" C=C exocíclico
			1540, 1480	" C=C y C=N
			700, 650	Monosustitución arom.
			770, 760	1,2-disustitución arom.
			18	O
1625	" C=N			
1575, 1555	" C=C			
1270, 1230	" C-O			
760, 740	Monosustitución arom.			

TABLA II (cont.)

Nº	X	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones	
19	0	4-OCH <sub>3</sub>	1705	f	Tensión C=O tiazolona
			1725, 1605	m	" C=C arom. y C=N
			1600, 1580	f	" C=C exocíclico
			1250	f	" C-O
			740, 705	f	Monosustitución arom.
			840, 820	f	1,4-disustitución arom.
20	0	4-NO <sub>2</sub>	1700	f	Tensión C=O tiazolona
			1620	f	" C=N
			1550	f	" C=C
			1510	f	" N-O antisimétrica
			1340	f	" N-O simétrica
			740, 690	f	Monosustitución arom.
			890, 840	f	1,4-disustitución arom.
			1705	f	Tensión C=O tiazolona
22	0	4-Cl	1630	f	" C=N
			1575, 1560	f	" C=C
			1257, 1254	m	" C-O
			750, 700	m	Monosustitución arom.
			830	m	1,4-disustitución arom.
			1755	f	Tensión C=O acetato
23	0	4-OCOCH <sub>3</sub>	1700	f	" C=O tiazolona

TABLA II (cont.)

Nº	X	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
23	0	4-OCOCH <sub>3</sub>	1625	Tensión C=N
			1580, 1560	" C=C
			1250, 1210	" C-O
			750, 700	Monosustitución arom.
			1765	Tensión C=O acetato
			1705	" C=O tiazolona
			1625	" C=N
24	0	3-OCOCH <sub>3</sub>	1555	" C=C
			1270, 1220	" C-O
			750, 700	Monosustitución arom.
			920	1,3-disustitución arom.
			1700	Tensión C=O tiazolona
			1620	" C=N
			1565	" C=C
25	0	3,4-OCH <sub>3</sub>	1280, 1250	" C-O
			760, 700	Monosustitución arom.
			900	1,3,4-trisustitución arom.
			1700	Tensión C=O tiazolona
			1620	" C=N
			1560	" C=C
			1257, 1250	" C-O
26	0	4-OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	1700	Tensión C=O tiazolona
			1620	" C=N
			1560	" C=C

TABLA II (cont.)

Nº	X	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
26	0	4-OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	750,700 830	Monosustitución arom. 1,4-disustitución arom.
27	0	3-(N-acetilindol)*	1725 1700 1620 1550 1215 770,750	Tensión C=O acetilo " C=O tiazolona " O=N " C=C " C-O 1,2-disustitución arom.
28	0	piridín-4**	1705 1630 1560 750,700	Tensión C=O tiazolona " C=N " C=C Monosustitución arom.
29	S	4-OH	3370 1670 1565 700,735 840	Tensión O-H fenólico " C=O tiazolona " C=C exocíclico Monosustitución arom. 1,4-disustitución arom.
30	S	indolil-3***	3250 1665 1570,1490	Tensión N-H " C=O tiazolona " C=N y C=C

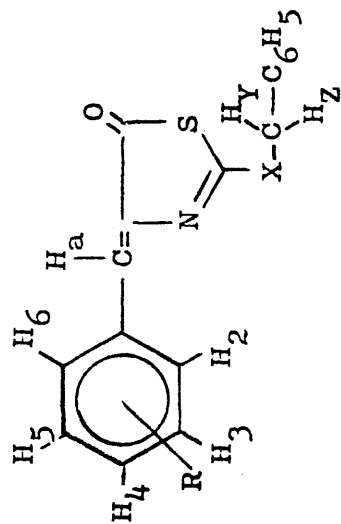
TABLA II (cont.)

- \* En este caso el núcleo aromático ha sido sustituido por un sistema de 3-(N-acetilindol)
- \* \* En este caso el núcleo aromático ha sido sustituido por un sistema 4-piridínico
- \* \* \* En este caso el núcleo aromático ha sido sustituido por un sistema 3-indólico

Todos los espectros han sido registrados en pastilla de BrK.

TABLA III

Espectros RMN de las 2-bencilto(o benciloxi)-5(4H)-tiazolonas



Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad	Valores J Hz	Asignaciones
1	S	H	8.11	m		2 H ( $H_2 + H_6$ )
			7.4	s		8 H ( $H_3 + H_4 + H_5 + C_6H_5$ )
			7.0	s		1 H ( $H_a$ )
			4.61	s		2 H ( $S-CH_2$ )
			8.1	d	$J_{3,2} = J_{5,6} = 8.7$	2 H ( $H_3 + H_5$ )
2	S	4-OCH <sub>3</sub>	7.37	m		5 H ( $C_6H_5$ )
			6.97	s		1 H ( $H_a$ )
			6.91	d	$J_{2,3} = J_{6,5} = 8.7$	2 H ( $H_2 + H_6$ )

TABLA III (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J-Hz	Asignaciones	
2	S	4-OCH <sub>3</sub>	4.59	s	2 H (S-CH <sub>2</sub> )	
			3.81	s	3 H (OCH <sub>3</sub> )	
3	S	4-NO <sub>2</sub>		Este espectro no ha podido ser registrado, debido a la insolubilidad del producto en los disolventes disponibles		
4	S	4-CH <sub>3</sub>	8.09	d	J <sub>3,2</sub> =J <sub>5,6</sub> =8	2 H (H <sub>3</sub> +H <sub>5</sub> )
			7.44	m		5 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
			7.27	d	J <sub>2,3</sub> =J <sub>6,5</sub> =8	2 H (H <sub>2</sub> +H <sub>6</sub> )
			7.02	s		1 H (H <sub>a</sub> )
			4.65	s		2 H (S-CH <sub>2</sub> )
			2.4	s		3 H (CH <sub>3</sub> )
			8.05	d	J <sub>2,3</sub> =J <sub>6,5</sub> =8.6	2 H (H <sub>5</sub> +H <sub>3</sub> )
5	S	4-Cl	7.37	m	7 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> +H <sub>2</sub> +H <sub>6</sub> )	
			6.93	s	1 H (H <sub>a</sub> )	
			4.61	s	2 H (S-CH <sub>2</sub> )	

TABLE III (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
6	S	3-Cl	8.36	s.d	1 H (H <sub>2</sub> )
			8.00-7.3	m+m	8 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> +H <sub>6</sub> +H <sub>5</sub> +H <sub>4</sub> )
			6.92	s	1 H (H <sub>a</sub> )
			4.67	s	2 H (S-CH <sub>2</sub> )
			8.15	c.d	2 H (H <sub>3</sub> +H <sub>5</sub> )
7	S	4-F	7.44	s.d	5 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
			7.20	d	2 H (H <sub>2</sub> +H <sub>6</sub> )
			6.98	s	1 H (H <sub>a</sub> )
			4.65	s	2 H (S-CH <sub>2</sub> )
			7.05	s	1 H (H <sub>2</sub> )
			7.45	m	7 H (H <sub>6</sub> +H <sub>5</sub> +C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
			6.98	s	1 H (H <sub>a</sub> )
			6.08	s	2 H (-OCH <sub>2</sub> O-)
			6.15	s	2 H (S-CH <sub>2</sub> )
			J <sub>2,3</sub> =J <sub>6,5</sub> =8.6		

TABLA III (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad	Valores J Hz	Asignaciones
9	S	4-OCOCH <sub>3</sub>	8.19	d	J <sub>2,3</sub> =J <sub>6,5</sub> =8.7	2 H (H <sub>2</sub> +H <sub>6</sub> )
			7.4	s.d		5 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
			7.2	d	J <sub>3,2</sub> =J <sub>5,6</sub> =8.7	2 H (H <sub>3</sub> +H <sub>5</sub> )
			7.0	s		1 H (H <sub>a</sub> )
			4.63	s		2 H (S-CH <sub>2</sub> )
			2.3	s		3 H (OCOCH <sub>3</sub> )
10	S	3-OCOCH <sub>3</sub>	8.2-7.2	Varios m		9 H arom.
			7.4	s		1 H (H <sub>a</sub> )
			6.98	s		2 H (S-CH <sub>2</sub> )
			4.64	s		3 H (OCOCH <sub>3</sub> )
			8.2-7.3	Varios m		8 H arom.
			6.98	s		1 H (H <sub>a</sub> )
11	S	3-OCOCH <sub>3</sub> , 4-OCH <sub>3</sub>	4.65	s		2 H (S-CH <sub>2</sub> )
			3.73	s		3 H (OCH <sub>3</sub> )
			2.3	s		3 H (OCOCH <sub>3</sub> )

TABLA III (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
12	S	3-OCH <sub>3</sub> , 4-OCOCH <sub>3</sub>	8.13-7.03	Varios m	8 H arom.
			6.98	s	1 H (H <sub>a</sub> )
			4.65	s	2 H (S-CH <sub>2</sub> )
			3.73	s	3 H (OCH <sub>3</sub> )
			2.30	s	3 H (OCOCH <sub>3</sub> )
13	S	3,4-OCOCH <sub>3</sub>	8.3-7.2	Varios m	8 H arom
			6.98	s	1 H (H <sub>a</sub> )
			4.65	s	2 H (S-CH <sub>2</sub> )
			2.3	s	3 H (OCOCH <sub>3</sub> )
			2.21	s	3 H (OCOCH <sub>3</sub> )
14	S	3-OCH <sub>3</sub>	7.92-6.9	Varios m	9 H arom
			6.98	s	1 H (H <sub>a</sub> )
			4.62	s	2 H (S-CH <sub>2</sub> )
			3.73	s	3 H (OCH <sub>3</sub> )
			8.12	d	2 H (H <sub>3</sub> +H <sub>5</sub> )
15	S	4-OCH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	7.43	s+s solapados	10 H arom.
					J <sub>3,2</sub> =J <sub>5,6</sub> =8.6

TABLA III (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplidad-Valores J Hz	Asignaciones	
15	S	4-OCH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	7.02	d	J <sub>2,3</sub> =J <sub>6,5</sub> =8.6	2 H (H <sub>2</sub> +H <sub>6</sub> )
			6.99	s		1 H (H <sub>a</sub> )
			5.13	s		2 H (OCH <sub>2</sub> )
			4.61	s		2 H (SCH <sub>2</sub> )
			8.13	d	J <sub>3,2</sub> =J <sub>5,6</sub> =8.7	2 H (H <sub>3</sub> +H <sub>5</sub> )
16	S	4-N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	7.45	m		5 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
			7.05	s		1 H (H <sub>a</sub> )
			6.72	d	J <sub>2,3</sub> =J <sub>6,5</sub> =8.7	2 H (H <sub>2</sub> +H <sub>6</sub> )
			4.65	s		2 H (S-CH <sub>2</sub> )
			3.08	s		6 H (2 CH <sub>3</sub> )
17	S	3-(N-acetil- -indol) +	8.62-6.8	Varios m		10 H arom. + 1 H (H <sub>a</sub> )
			4.68	s		2 H (S-CH <sub>2</sub> )
			2.39	s		3 H (COCH <sub>3</sub> )
			8.07	m		2 H (H <sub>2</sub> +H <sub>6</sub> )
			7.45	m		8 H (H <sub>3</sub> +H <sub>5</sub> +H <sub>4</sub> +C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )

TABLA III (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
18	0	H	7.0	s	1 H ( $H_a$ )
			5.5	s	2 H (O-CH <sub>2</sub> )
19	0	4-OCH <sub>3</sub>	8.02	d	2 H ( $H_2+H_6$ )
			7.44	s.d	5 H ( $C_6H_5$ )
			6.96	s	1 H ( $H_a$ )
			6.93	d	2 H ( $H_3+H_5$ )
			5.68	s	2 H (O-CH <sub>2</sub> )
			3.81	s	3 H (OCH <sub>3</sub> )
20	0	4-NO <sub>2</sub>	8.23	s	4 H ( $H_2+H_3+H_5+H_6$ )
			7.47	s	5 H ( $C_6H_5$ )
			6.98	s	1 H ( $H_a$ )
			5.68	s	2 H (O-CH <sub>2</sub> )
21	0	4-CH <sub>3</sub>	8.00	d	2 H ( $H_3+H_5$ )
			7.48	s.d	5 H ( $C_6H_5$ )
			7.3	d	2 H ( $H_2+H_6$ )
			7.02	s	1 H ( $H_a$ )

TABLA III (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
21	0	4-Cl <sub>3</sub>	5.64	s	2 H (O-CH <sub>2</sub> )
			2.4	s	3 H (CH <sub>3</sub> )
22	0	4-Cl	8.02	d	2 H (H <sub>3</sub> +H <sub>5</sub> )
			7.5	s	5 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
			7.41	d	2 H (H <sub>2</sub> +H <sub>6</sub> )
			6.96	s	1 H (H <sub>a</sub> )
			5.65	s	2 H (O-CH <sub>2</sub> )
23	0	4-OCOCH <sub>3</sub>	8.1	d	2 H (H <sub>3</sub> +H <sub>5</sub> )
			7.47	s	5 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
			7.2	d	2 H (H <sub>2</sub> +H <sub>6</sub> )
			6.99	s	1 H (H <sub>a</sub> )
			5.62	s	2 H (O-CH <sub>2</sub> )
			2.30	s	3 H (OCOCH <sub>3</sub> )
24	0	3-OCOCH <sub>3</sub>	8.1-7.1	Varios m solapados con:	9 H (H <sub>4</sub> +H <sub>5</sub> +H <sub>6</sub> +H <sub>2</sub> +C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
			7.48	s	1 H (H <sub>a</sub> )
			5.65	s	2 H (O-CH <sub>2</sub> )
			2.3	s	3 H (OCOCH <sub>3</sub> )

TABLA III (cont.)

Nº	X	R	Valores	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
25	0	3,4-OCH <sub>3</sub>	8.1-6.9	Varios m	4 H (H <sub>6</sub> +H <sub>5</sub> +H <sub>4</sub> +H <sub>2</sub> )
			7.5	s	5 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
			7.02	s	1 H (H <sub>a</sub> )
			5.68	s	2 H (O-CH <sub>2</sub> )
			3.95	s	3 H (OCH <sub>3</sub> )
			3.92	s	3 H (OCH <sub>3</sub> )
26	0	4-OCH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	8.08	d	2 H (H <sub>3</sub> +H <sub>5</sub> )
			7.45	s.d	5 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
			7.05	d	2 H (H <sub>2</sub> +H <sub>6</sub> )
			7.00	s	1 H (H <sub>a</sub> )
			5.63	s	2 H (O-CH <sub>2</sub> )
			5.25	s	2 H (O-CH <sub>2</sub> )
27	0	3-(N-acetil- -indol) *	8.6-7.3	Varios m solapados con:	10 H arom.
			7.3	s	1 H (H <sub>a</sub> )
			5.68	s	2 H (O-CH <sub>2</sub> )
			2.63	s	3 H (OC.CH <sub>3</sub> )

TABLA III (cont.)

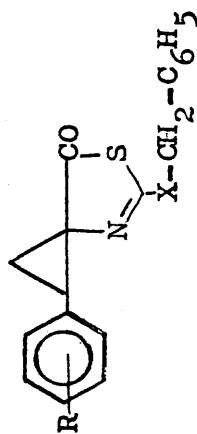
Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad	Valores J Hz	Asignaciones
28	0	piridin-4	8.75	c	$J_{3,2}=J_{5,6}=4.6$ $J_{2,6}=1.3; J_{3,5}=0$	2 H ( $H_3+H_5$ )
			7.85	c	$J_{2,3}=J_{6,5}=4.6$ $J_{6,2}=1.3; J_{5,3}=0$	2 H ( $H_2+H_6$ )
			7.5	s		5 H ( $C_6H_5$ )
			6.88	s		1 H ( $H_a$ )
			5.69	s		2 H ( $O-CH_2$ )

Todos los espectros se han registrado en  $Cl_3CD$ , con TMS como referencia interna.

En este caso el núcleo bencénico ha sido sustituido por un sistema de 3-(N-acetilindolilo), y en por uno 4-piridínico.

TABLA IV

1-aril-5-bencilto(o benciltoxi)-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas



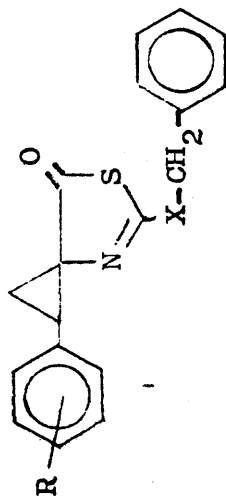
Nº	X	R	P.F.°C	Fórmula	Calculado			Hallado				
					C	H	S	C	H	S		
1	S	H	91-2	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> ONS <sub>2</sub>	66.45	4.64	4.30	19.14	66.54	4.56	4.07	19.58
2	S	4-OCH <sub>3</sub>	90-1	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> NS <sub>2</sub>	64.22	4.82	3.94	18.00	63.98	4.66	4.18	18.40
3	S	4-NO <sub>2</sub>	110-2	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> N <sub>2</sub> S <sub>2</sub>	58.37	3.81	7.56	17.28	58.18	3.99	7.44	17.02
4	S	4-CH <sub>3</sub>	95-6	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> ONS <sub>2</sub>	67.24	5.04	4.12	18.88	67.41	5.21	4.08	18.54
5	S	4-Cl	88-9	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> ONS <sub>2</sub> Cl	60.10	3.89	3.89	17.80	59.82	3.98	3.73	17.61
6	S	3-Cl	72-3	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> ONS <sub>2</sub> Cl	60.10	3.89	3.89	17.80	60.52	4.02	3.81	17.86
7	S	4-F	69-0	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> ONS <sub>2</sub> F	61.63	4.22	4.22	19.33	61.93	4.20	4.07	19.05
8	S	3,4-O-CH <sub>2</sub> O-	83-4	C <sub>19</sub> H <sub>15</sub> O <sub>3</sub> NS <sub>2</sub>	61.78	4.09	3.79	17.34	61.51	3.83	3.47	16.88
9	S	4-OCOCH <sub>3</sub>	77-8	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> O <sub>3</sub> NS <sub>2</sub>	64.86	4.20	3.43	15.70	64.88	4.43	3.60	16.50
10	S	3-OCOCH <sub>3</sub>	85-6	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> O <sub>3</sub> NS <sub>2</sub>	64.86	4.20	3.43	15.70	64.70	4.30	3.21	16.25
11	S	3-OCOCH <sub>3</sub> , 4-OCH <sub>3</sub>	112-3	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>4</sub> NS <sub>2</sub>	61.01	4.63	3.38	15.50	61.29	4.42	3.18	15.30

Nº	X	R	P.F.°C	Fórmula	Calculado					Hallado				
					C	H	N	S	C	H	N	S		
12	S	3-OCH <sub>3</sub> , 4-OCOCH <sub>3</sub>	108-9	C <sub>21</sub> H <sub>19</sub> O <sub>4</sub> NS <sub>2</sub>	61.01	4.63	3.38	15.50	60.89	4.61	3.46	15.17		
13	S	3, 4-OCOCH <sub>3</sub>	115-7	C <sub>22</sub> H <sub>19</sub> O <sub>5</sub> NS <sub>2</sub>	59.86	4.33	3.17	14.51	59.63	4.35	3.04	14.26		
14	S	3-OCH <sub>3</sub>	64-5	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> O <sub>2</sub> NS <sub>2</sub>	64.21	4.82	3.94	18.00	64.45	4.76	4.09	18.29		
15	S	4-OCH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	75-6	C <sub>25</sub> H <sub>21</sub> O <sub>2</sub> NS <sub>2</sub>	69.59	4.90	3.24	14.80	70.00	5.04	3.25	14.73		
16	S	3-(N-acetilindol)*	118-9	C <sub>22</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub> NS <sub>2</sub>	65.34	3.98	6.92	15.82	65.52	4.45	6.45	15.90		
17	O	H	77-8	C <sub>18</sub> H <sub>15</sub> O <sub>2</sub> NS	70.01	5.15	4.79	10.55	69.89	4.88	4.25	10.35		
18	O	4-OCH <sub>3</sub>	68-9	C <sub>19</sub> H <sub>17</sub> O <sub>3</sub> NS	67.35	5.04	4.34	9.40	67.24	5.04	4.12	9.42		
19	O	4-NO <sub>2</sub>	125-6	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> N <sub>2</sub> S	60.97	4.09	7.61	8.91	61.01	3.98	7.90	9.03		
20	O	4-Cl	95-6	C <sub>18</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> NSCl	62.90	4.07	4.07	9.79	62.70	4.08	4.08	8.62		
21	O	4-OCOCH <sub>3</sub>	117-8	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> O <sub>4</sub> NS	65.38	4.66	3.81	8.70	65.61	4.55	3.91	8.48		
22	O	3-OCOCH <sub>3</sub>	102-3	C <sub>20</sub> H <sub>17</sub> O <sub>4</sub> NS	65.38	4.66	3.81	8.70	65.16	4.49	4.18	8.59		
23	O	4-OCH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	77-8	C <sub>25</sub> H <sub>21</sub> O <sub>3</sub> NS	72.28	5.06	3.37	7.71	73.03	5.25	3.10	8.29		

\* En este caso el núcleo bencénico ha sido sustituido por un sistema de 3-(N-acetilindol)

TABLA V

Absorciones IR de 1-aril-5-benciltio(o benciloxi)-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas



Nº	X	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
1	S	H	1710	Tensión C=O tiazolona
			1540	" C=N
			715-705	Monosustitución arom.
			780	"
2	S	4-OCH <sub>3</sub>	1710	Tensión C=O tiazolona
			1610	" C=N
			1540, 1520	" C=C arom.
			1250	" C-O
			690, 710	Monosustitución arom.
			840, 810	1,4-disustitución arom.
3	S	4-NO <sub>2</sub>	1720	Tensión C=O tiazolona
			1610, 1570	" C=N y C=C
			1510	" N-O antisimétrica

TABLA V (cont.)

Nº	X	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
3	S	4-NO <sub>2</sub>	1350	Tensión N-O simétrica
			710, 740	Monosustitución arom.
			860	1,4-disustitución arom.
4	S	4-CH <sub>3</sub>	1718	Tensión C=O tiazolona
			1540	" C=N
			1500	" C=C arom.
			710	Monosustitución arom.
			850, 820	1,4-disustitución arom.
5	S	4-Cl	1718	Tensión C=O tiazolona
			1550	" C=N
			1500	" C=C arom.
			700, 730	Monosustitución arom.
			840	1,4-disustitución arom.
6	S	3-Cl	1710	Tensión C=O tiazolona
			1600	" C=C arom.
			1540	" C=C
			690-710	monosustitución arom.

TABLA V (cont.)

Nº	X	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
7	S	4-F	1710	Tensión C=O tiazolona
			1540	" C=N
			1525	" C=C
			680, 705	Monosustitución arom.
			850	1,4-disustitución arom.
8	S	3,4-OCH <sub>2</sub> O-	1715	Tensión C=O tiazolona
			1550	" C=N
			1510	" C=C arom.
			1250	" C-O
			700	Monosustitución arom.
9	S	4-OCOCH <sub>3</sub>	1765	Tensión C=O acetato
			1715	" C=O tiazolona
			1550	" C=N
			1500	" C=C arom.
			1220	" C-O
			700	Monosustitución arom.
			850	1,4-disustitución arom.
10	S	3-OCOCH <sub>3</sub>	1765	Tensión C=O acetato
			1710	" C=O tiazolona
			1545	" C=N
			1600, 1500	" C=C arom.
			1210	" C-O

TABLA V (cont.)

Nº	X	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
10	S	3-OCOCH <sub>3</sub>	710	Monosustitución arom.
			830,770	1,3-disustitución arom.
11	S	3-OCOCH <sub>3</sub> , 4-OCH <sub>3</sub>	1770	Tensión C=O acetato
			1710	" C=O tiazolona
			1550	" C=N
			1520	" C=C arom.
			1215	" C-O
			700	Monosustitución arom.
12	S	4-OCOCH <sub>3</sub> , 3-OCH <sub>3</sub>	820,780	1,3,4-trisustitución arom.
			1770	Tensión C=O acetato
			1710	" C=O tiazolona
			1550	" C=N
			1610,1520	" C=C arom.
			1200	" C-O
			710	Monosustitución arom.
			900	1,3,4-trisustitución arom.
13	S	3,4-OCOCH <sub>3</sub>	1775	Tensión C=O acetatos
			1715	" C=O tiazolona
			1550	" C=N
			1210,1190	" C-O

TABLA V (cont.)

Nº	X	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
13	S	3,4-OCOCH <sub>3</sub>	720 890	Monosustitución arom. 1,3,4-trisustitución arom.
14	S	3-OCH <sub>3</sub>	1720 1550 1600,1500	Tensión C=O tiazolona " C=N " C=C arom.
15	S	4-OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	710 785 1720 1560 1620,1520 1265 740,700 840	Monosustitución arom. 1,3-disustitución arom. Tensión C=O tiazolona " C=N " C=C arom. " C-O Monosustitución arom. 1,4-disustitución arom.
16	S	3-(N-acetilindol) <sup>4</sup>	1710 1550 700 760	Tensión C=O tiazolona " C=N Monosustitución arom. 1,2-disustitución arom.
17	O	H	1725 1625 1230,1200 750,740	Tensión C=O tiazolona " C=N " C-O Monosustitución arom.

TABLA V (cont.)

Nº	X	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
18	0	4-OCH <sub>3</sub>	1714	Tensión C=O tiazolona
			1630	" C=N
			1250, 1200	" C-O
			725	monosustitución arom.
			840	1,4-disustitución arom.
			1715	Tensión C=O tiazolona
19	0	4-NO <sub>2</sub>	1630	" C=N
			1510	" N-O antisimétrica
			1550	" C=C
			1340	" N-O simétrica
			1250, 1200	" C-O
			740, 700	monosustitución arom.
20	0	4-Cl	850	1,4-disustitución arom.
			1710-1720	Tensión C=O tiazolona
			1630	" C=N
			1500	" C=C arom.
			1240, 1200	" C-O
			750, 700	monosustitución arom.
21	0	4-OCOCH <sub>3</sub>	830	1,4-disustitución arom.
			1770	Tensión C=O acetato
			1730	" C=O tiazolona

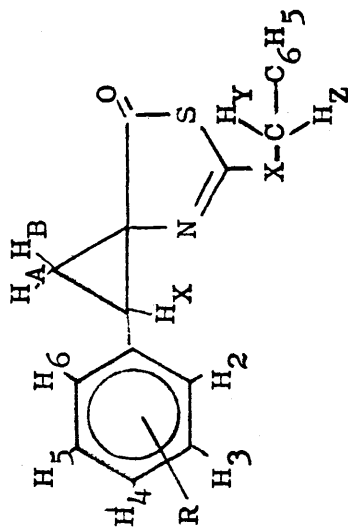
TABLA V (cont.)

Nº	X	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
21	0	4-OCOCH <sub>3</sub>	1630	Tensión C=N
			1520	" C=C arom.
			1240-1200	" C-O
			755,705	monosustitución arom.
			855	1,4-disustitución arom.
22	0	3-OCOCH <sub>3</sub>	1768	Tensión C=O acetato
			1718	" C=O tiazolona
			1630	" C=N
			1250-1210	" C-O
			730,690	monosustitución arom.
			800	1,3-disustitución arom.
			23	0
1634	" C=N			
1520	" C=C arom.			
1250	" C-O			
730, 700	Monosustitución arom.			
840	1,4-disustitución arom.			

Todos los espectros se han registrado en pastilla de BrK.

En este caso el núcleo bencénico ha sido sustituido por un sistema de 3-(N-acetilindolilo).

Espectros RMN de 1-aril-5-bencilitio(o benciloxi)-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas



Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones	
1	S	H	7.37	s	5 H arom.	
			7.15	m	5 H ( $C_6H_5$ )	
			4.3	d	$J_{Y,Z}=14.8$	2 H ( $H_Z+H_Y$ )
			4.0	d	$J_{Z,Y}=14.8$	1 H ( $H_X$ )
			3.2	m		2 H ( $H_A+H_B$ )
			2.4	m		2 H ( $H_2+H_6$ )
2	S	4-OCH <sub>3</sub>	7.27	d	$J_{2,3}=J_{6,5}=8.7$	
			7.16	m	5 H ( $C_6H_5$ )	

TABLA VI (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
2	S	4-OCH <sub>3</sub>	6.88	J <sub>3,2</sub> =J <sub>5,6</sub> =8.7	2 H (H <sub>3</sub> +H <sub>5</sub> )
			4.35	J <sub>YZ</sub> =14.8	2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )
			4.04	J <sub>ZY</sub> =14.8	3 H (OCH <sub>3</sub> )
			3.78		1 H (H <sub>X</sub> )
			3.2		2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
			2.3		
3	S	4-NO <sub>2</sub>	8.18	J <sub>3,2</sub> =J <sub>5,6</sub> =8.7	2 H (H <sub>5</sub> +H <sub>3</sub> )
			7.5	J <sub>2,3</sub> =J <sub>6,5</sub> =8.7	2 H (H <sub>2</sub> +H <sub>6</sub> )
			7.2		5 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
			4.37	J <sub>YZ</sub> =14.8	2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )
			4.1	J <sub>ZY</sub> =14.8	1 H (H <sub>X</sub> )
			3.24		2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
4	S	4-CF <sub>3</sub>	7.23	s solapado con:	5 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
			7.15		4 H (H <sub>2</sub> +H <sub>3</sub> +H <sub>5</sub> +H <sub>6</sub> )
			4.38	J <sub>YZ</sub> =14	1 H (H <sub>Y</sub> )

TABLA VI (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones	
4	S	4-Cl <sub>3</sub>	4.04	d $J_{ZY}=14$	1 H (H <sub>Z</sub> )	
			2.35	s	3 H (CH <sub>3</sub> )	
			3.20	c	1 H (H <sub>X</sub> )	
			2.30	m		2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
			7.3	s		5 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
			7.18	m		4 H (H <sub>2</sub> +H <sub>3</sub> +H <sub>5</sub> +H <sub>6</sub> )
			4.32	d	$J_{YZ}=14$	2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )
5	S	4-Cl	4.05	d $J_{ZY}=14$		
			3.12	c $J_{XA}=10.07$	1 H (H <sub>X</sub> )	
					$J_{BX}=8.53$	
			2.29	m $J_{BX}=8.53$ ; $J_{AB}=-4$		
					$J_{AX}=10.07$ ; $J_{BA}=-4$	
6	S	3-Cl	7.25	m	9 H arom.	
			4.34	d $J_{YZ}=14$		
			4.10	d $J_{ZY}=14$	2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )	
			3.15	c $J_{XA}=10.07$ ; $J_{XB}=8.53$	1 H (H <sub>X</sub> )	
						2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )

TABLA VI (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplidad-Valores J Hz	Asignaciones
6	S	3-Cl	2.28	$J_{BX}=8.53; J_{BA}=-4$ $J_{AX}=10.07; J_{AB}=-4$	2 H ( $H_A+H_B$ )
			7.18		9 H arom.
7	S	4-F	4.38	$J_{ZY}=14$	2 H ( $H_Y+H_Z$ )
			4.10	$J_{YZ}=14$	1 H ( $H_X$ )
8	S	3,4-OCH <sub>2</sub> O-	3.18	$J_{XA}=10.07; J_{XB}=8.53$	2 H ( $H_A+H_B$ )
			2.32	$J_{BX}=8.53; J_{BA}=-4$ $J_{AX}=10.07; J_{AB}=-4$	5 H ( $C_6H_5$ )
			7.22		3 H ( $H_2+H_6+H_5$ )
			6.82		2 H ( $OCH_2O-$ )
			5.95		
			4.38	$J_{YZ}=14$	2 H ( $H_Y+H_Z$ )
			4.10	$J_{ZY}=14$	1 H ( $H_X$ )
			3.15	$J_{XB}=10.07; J_{XA}=8.53$	
			2.29	$J_{AX}=10.07; J_{AB}=-4$ $J_{BX}=8.53; J_{AB}=-4$	2 H ( $H_A+H_B$ )

TABLA VI (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
9	S	4-OCOCH <sub>3</sub>	7.21	m	9 H arom.
			4.22	s.d	2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )
			3.19	t	1 H (H <sub>X</sub> )
			2.30	m	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
			2.28	s	3 H (OCOCH <sub>3</sub> )
10	S	3-OCOCH <sub>3</sub>	7.2	m	9 H arom.
			4.25	s	2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )
			3.15	c	1 H (H <sub>X</sub> )
			2.25	m	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
			2.22	s	3 H (OCOCH <sub>3</sub> )
11	S	3-OCOCH <sub>3</sub> , 4-OCH <sub>3</sub>	7.22	s	5 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
			7.00	m	3 H (H <sub>2</sub> +H <sub>5</sub> +H <sub>6</sub> )
			4.25	s	2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )
			3.81	s	3 H (OCH <sub>3</sub> )
			3.15	c	1 H (H <sub>X</sub> )
			2.26	m	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
			2.25	s	3 H (OCOCH <sub>3</sub> )

TABLA VI (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multipl. - Valores J Hz	Asignaciones			
12	S	3-OCH <sub>3</sub> , 4-OCOCH <sub>3</sub>	7.27	s	5 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )			
			7.00	s	3 H (H <sub>2</sub> +H <sub>5</sub> +H <sub>6</sub> )			
			4.37	d	J <sub>YZ</sub> =14	2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )		
			4.14	d	J <sub>ZY</sub> =14	3 H (OCH <sub>3</sub> )		
			3.78	s		1 H (H <sub>X</sub> )		
			3.18	c		2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )		
			2.32	m		3 H (OCOCH <sub>3</sub> )		
			2.30	s		8 H arom.		
			7.29	s		2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )		
			4.29	s		1 H (H <sub>X</sub> )		
13	S	3,4-OCOCH <sub>3</sub>	3.15	c	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )			
			2.28	m	3 H (OCOCH <sub>3</sub> )			
			2.26	s	3 H (OCOCH <sub>3</sub> )			
			2.25	s	3 H (OCOCH <sub>3</sub> )			
			7.15	m		9 H arom.		
			4.38	d	J <sub>YZ</sub> =14	2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )		
			4.15	d	J <sub>ZY</sub> =14			
			14	S	3-OCH <sub>3</sub>	7.15	m	
						4.38	d	J <sub>YZ</sub> =14

TABLA VI (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
14	S	3-OCH <sub>3</sub>	4.8	s	3 H (OCH <sub>3</sub> )
			3.21	t	1 H (H <sub>X</sub> )
			2.35	m	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
			7.15	m	14 H arom
15	S	4-OCH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	5.08	s	2 H (OCH <sub>2</sub> )
			4.35	d	2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )
			4.18	d	2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )
			3.18	o	1 H (H <sub>X</sub> )
			2.32	m	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
			8.5	m	1 H indólico
16	S	3-(N-acetil- -indol) *	7.3	m	9 H arom.
			4.29	d	2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )
			4.03	d	2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )

TABLA VI (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Vaiores J Hz	Asignaciones
16	S	3-(N-acetil- -indol) *	3.25	t	1 H ( $H_X$ )
			2.35	m	2 H ( $H_A+H_B$ )
			2.54	s	3 H ( $COCH_3$ )
			7.31	s	5 H arom.
			7.28	s	5 H arom.
17	O	H	5.22	s	2 H ( $OCH_2$ )
			3.1	t.d	1 H ( $H_X$ )
			2.19	d	2 H ( $H_A+H_B$ )
			7.25	s	5 H ( $C_6H_5$ )
			7.20	d	2 H ( $H_6+H_2$ )
18	O	4- $OCH_3$	6.85	d	2 H ( $H_3+H_5$ )
			5.3	d	2 H ( $H_Y+H_Z$ )
			5.1	d	3 H ( $OCH_3$ )
			3.79	s	1 H ( $H_X$ )
			3.05	t	2 H ( $H_A+H_B$ )
			2.13	d	2 H ( $H_A+H_B$ )
					$J_{XA}=J_{XB}=8.7$
					$J_{AX}=J_{BX}=8.7$
					s solapado con:
					$J_{2,3}=J_{6,5}=8.8$
					$J_{3,2}=J_{5,6}=8.8$
					$J_{YZ}=12$
					$J_{ZY}=12$
					$J_{XA}=J_{XB}=8.7$
					$J_{AX}=J_{BX}=8.7$

TABLA VI (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplidad-Valores J Hz	Asignaciones	
19	0	4-NO <sub>2</sub>	8.17	d	$J_{3,2}=J_{5,6}=8.7$	2 H (H <sub>5</sub> +H <sub>3</sub> )
			7.43	d	$J_{2,3}=J_{6,5}=8.7$	2 H (H <sub>2</sub> +H <sub>6</sub> )
			7.27	s		5 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
			5.24	s		2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )
			3.11	t	$J_{XA}=J_{XB}=8.7$	1 H (H <sub>X</sub> )
			2.22	d.d	$J_{AX}=J_{BX}=8.7$	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
20	0	4-Cl	7.25	s		9 H arom.
			5.32	d	$J_{YZ}=12$	2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )
			5.15	d	$J_{ZY}=12$	
			3.02	t	$J_{XA}=J_{XB}=8.7$	1 H (H <sub>X</sub> )
			2.14	d.d	$J_{AX}=J_{BX}=8.7$	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
			7.24	s	solapado con:	5 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
21	0	4-OCOCH <sub>3</sub>	7.16	m		4 H (H <sub>3</sub> +H <sub>5</sub> +H <sub>2</sub> +H <sub>6</sub> )
			5.32	d	$J_{YZ}=12$	
			5.12	d	$J_{ZY}=12$	2 H (H <sub>Y</sub> +H <sub>Z</sub> )

TABLA VI (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multipl. - Valores J Hz	Asignaciones	
21	0	4-OCOCH <sub>3</sub>	3.00	t	J <sub>XA</sub> = J <sub>XB</sub> = 8.7	1 H (H <sub>X</sub> )
			2.25	s		3 H (OCOCH <sub>3</sub> )
			2.08	d,d	J <sub>AX</sub> = J <sub>BX</sub> = 8.7	2 H (H <sub>A</sub> + H <sub>B</sub> )
			7.33	s	solapado con:	5 H (C <sub>6</sub> H <sub>5</sub> )
			7.18	m		4 H (H <sub>2</sub> + H <sub>4</sub> + H <sub>5</sub> + H <sub>6</sub> )
22	0	3-OCOCH <sub>3</sub>	5.27	s		2 H (O-CH <sub>2</sub> )
			3.08	t	J <sub>XA</sub> = J <sub>XB</sub> = 8.7	1 H (H <sub>X</sub> )
			2.28	s		3 H (OCOCH <sub>3</sub> )
			2.15	d,d	J <sub>AX</sub> = J <sub>BX</sub> = 8.7	2 H (H <sub>A</sub> + H <sub>B</sub> )
			7.44	s		5 H arom.
			7.31	s		5 H arom.
			7.29	d	J <sub>2,3</sub> = J <sub>6,5</sub> = 8.8	2 H (H <sub>2</sub> + H <sub>6</sub> )
			6.97	d	J <sub>3,2</sub> = J <sub>5,6</sub> = 8.8	2 H (H <sub>3</sub> + H <sub>5</sub> )
			5.25	s		2H (O-CH <sub>2</sub> )
			5.1	s		2 H (O-CH <sub>2</sub> )
23	0	4-OCH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	7.44	s		5 H arom.
			7.31	s		5 H arom.

TABLA VI (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
23	0	4-OCH <sub>2</sub> -C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	3.06	t J <sub>XA</sub> =J <sub>XB</sub> =8.8	1 H (H <sub>X</sub> )
			2.25	d J <sub>AX</sub> =J <sub>BX</sub> =8.8	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )

Todos los espectros han sido registrados en Cl<sub>3</sub>CD con TMS como referencia interna

\* En este caso el núcleo aromático se ha sustituido por un sistema de 3-(N-acetilindolilo)

Absorción IR de los ácidos 1-amino-2-aril-1-ciclopropanocarboxílicos



Nº	R	Absorción	Asignaciones
1	H	3480 2950 1650-1520 765,690	Tensión O-H " N-H (NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> ) Defor. NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> ; tensión C=O; CO <sub>2</sub> <sup>-</sup> † tensión C=C arom. Monosust. arom.
2	4-OCH <sub>3</sub>	3370 2970 1620 1570 1520 1250 780 835	Tensión O-H " N-H (NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> ) Banda I de aminoácido; tensión C=C arom. Defor. NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> CO <sub>2</sub> <sup>-</sup> Tensión C-O Monosust. arom. 1,4-disust. arom.

TABLA VII (cont.)

Nº	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
3	4-CH <sub>3</sub>	3370	Tensión O-H
		2980	" N-H (NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )
		1610	Banda I de aminoácido; tensión C=C arom.
		1575	Defor. NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>
		1515	CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>
		780	Monosust. arom.
		830	1,4-disust. arom.
		3360	Tensión O-H
		2980	" N-H (NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )
		1610	Banda I de aminoácido; tensión C=C arom.
4	4-Cl	1570	Defor. NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>
		1500	CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>
		760	Monosust. arom.
		840	1,4-disust. arom.
		3360	Tensión O-H
		2970	" N-H (NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )
		1605	Banda I de aminoácido; tensión C=C arom.
		1570	Defor. NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>
		1505	CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>
		790,700	Monosust. arom.
5	3-Cl	920,825	1,3-disust. arom.
		3360	Tensión O-H
		2970	" N-H (NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )
		1605	Banda I de aminoácido; tensión C=C arom.
		1570	Defor. NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>
		1505	CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>
		790,700	Monosust. arom.
		920,825	1,3-disust. arom.

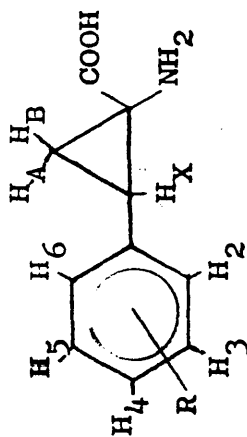
TABLA VII (cont.)

Nº	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
6	3,4-OCH <sub>2</sub> O-	3440	Tensión O-H
		3000	" N-H (NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )
		1570	Defor. NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> ; C=C arom.
		1505	CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>
		1255	Tensión C-O
		820	1,3-disust. arom.
7	3-OH,4-OCH <sub>3</sub>	3560	Tensión O-H fenol
		3420	" O-H ácido
		3000	" N-H (NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )
		1650	Banda I de aminoácido
		1600	Tensión  C=C arom.
		1550	Defor. NH <sub>3</sub> <sup>+</sup>
		1500	Tensión C=C arom.
		765	Monosust. arom.
		800,900	Sustituciones arom.
		8	3-OCH <sub>3</sub>
2960	" N-H (NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )		
1615	Banda I de aminoácido; tensión C=C arom.		
1520	CO <sub>2</sub> <sup>-</sup>		
700	Monosust. arom.		
880,785	1,3-disust. arom.		

Todos los espectros se han registrado en pastilla de BrK.

TABLA VIII

Espectros RMN de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos



Nº	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
1	H	7.32	s	5 H arom.
		2.70	c	1 H ( $H_X$ )
		1.62	c	1 H ( $H_A$ )
		1.28	c	1 H ( $H_B$ )
2	4-OCH <sub>3</sub>	7.23	d	2 H ( $H_2+H_6$ )
		6.92	d	2 H ( $H_3+H_5$ )
		2.69	c	1 H ( $H_X$ )
		1.70	c	1 H ( $H_A$ )
		1.23	c	1 H ( $H_B$ )

TABLA VIII (cont.)

Nº	R	Valores $\delta$	Multiplidad-Valores J Hz	Asignaciones
3	4-CH <sub>3</sub>	7.26	s	4 H arom.
		2.65	c	J <sub>XA</sub> =9.3; J <sub>XB</sub> =7.3 1 H (H <sub>X</sub> )
		2.30	s	3 H (CH <sub>3</sub> )
		1.64	c	J <sub>AX</sub> =9.3; J <sub>AB</sub> =-5.3 1 H (H <sub>A</sub> )
		1.25	c	J <sub>BX</sub> =7.3; J <sub>BA</sub> =-5.3 1 H (H <sub>B</sub> )
4	4-Cl	7.33	m	4 H arom.
		2.70	c	J <sub>XA</sub> =9.3; J <sub>XB</sub> =7.3 1 H (H <sub>X</sub> )
		1.65	c	J <sub>AX</sub> =9.3; J <sub>AB</sub> =-5.3 1 H (H <sub>A</sub> )
		1.24	c	J <sub>BX</sub> =7.3; J <sub>BA</sub> =-5.3 1 H (H <sub>B</sub> )
		7.30	s.d	4 H arom.
5	3-Cl	2.70	c	J <sub>XA</sub> =9.3; J <sub>XB</sub> =7.3 1 H (H <sub>X</sub> )
		1.65	c	J <sub>AX</sub> =9.3; J <sub>AB</sub> =-5.3 1 H (H <sub>A</sub> )
		1.28	c	J <sub>BX</sub> =7.3; J <sub>BA</sub> =-5.3 1 H (H <sub>B</sub> )
		6.82	s	3 H arom.
		5.92	s	2 H (OCH <sub>2</sub> O)
6	3,4-OCH <sub>2</sub> O-	2.64	c	J <sub>XA</sub> =9.3; J <sub>XB</sub> =7.3 1 H (H <sub>X</sub> )

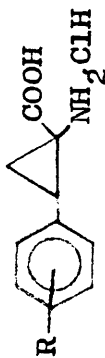
TABLA VIII (cont.)

Nº	R	Valores $\delta$	Multiplidad-Valores J Hz	Asignaciones
6	3,4-OCH <sub>2</sub> O-	1.60	c J <sub>AX</sub> =9.3; J <sub>AB</sub> =-5.3	1 H (H <sub>A</sub> )
		1.18	c J <sub>BX</sub> =7.3; J <sub>BA</sub> =-5.3	1 H (H <sub>B</sub> )
7	3-OCH <sub>3</sub> ,4-OH	6.83	m	3 H arom.
		3.80	s	3 H (OCH <sub>3</sub> )
		2.6	c J <sub>XA</sub> =9.3; J <sub>XB</sub> =7.3	1 H (H <sub>X</sub> )
		1.6	c J <sub>AX</sub> =9.3; J <sub>AB</sub> =-5.3	1 H (H <sub>A</sub> )
8	3-OCH <sub>3</sub>	1.2	c J <sub>BX</sub> =7.3; J <sub>BA</sub> =-5.3	1 H (H <sub>B</sub> )
		7.32	m	4 H arom.
		6.90	m	
		3.80	s	3 H (OCH <sub>3</sub> )
		2.69	c J <sub>XA</sub> =9.3; J <sub>XB</sub> =7.3	1 H (H <sub>X</sub> )
		1.62	c J <sub>AX</sub> =9.3; J <sub>AB</sub> =-5.3	1 H (H <sub>A</sub> )
1.27	c J <sub>BX</sub> =7.3; J <sub>BA</sub> =-5.3		1H (H <sub>B</sub> )	

Todos los espectros se han registrado en D<sub>2</sub>O con KOH, y como referencia interna DDS

TABLA IX

Hidrocloruros de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos



Nº	R	P.F.°C	Fórmula	Caloulado			Hallado		
				C	H	N	C	H	N
1	H	207-8	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> NCl	56.23	5.62	6.56	55.98	5.83	6.54
2	4-OCH <sub>3</sub>	198-9	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> NCl	54.20	5.75	5.75	54.45	6.05	6.02
3	4-CH <sub>3</sub>	191-2	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>2</sub> NCl	57.52	6.10	6.10	57.76	6.13	6.81
4	4-Cl	190-1	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> NCl <sub>2</sub>	48.38	4.47	5.64	48.18	4.35	5.47
5	3-Cl	172-5	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> NCl <sub>2</sub>	48.38	4.47	5.64	48.60	4.70	5.64
6	4-F	212-3	C <sub>10</sub> H <sub>11</sub> O <sub>2</sub> NClF	51.85	4.75	6.04	51.89	4.94	5.98
7	3,4-OCH <sub>2</sub> O-	197-8	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub> NCl	51.28	4.66	5.43	51.08	4.69	5.58
8	3-OCH <sub>3</sub> ,4-OH	189-0	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>4</sub> NCl	50.88	5.39	5.39	50.69	5.48	5.34
9	3-OCH <sub>3</sub>	176-7	C <sub>14</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> NCl	54.23	5.75	5.75	54.24	5.87	5.59
10	4-OH	190cd	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> NCl	52.31	5.23	6.10	51.96	5.30	5.85

Absorciones IR de los hidroccloruros de 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxilicos



Nº	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
1	H	3410 3000 1735 1590 1500 1225, 1180 740, 700	Tensión O-H " N-H " C=O ácido Defor. N-H y tensión C=C arom. Tensión C=C arom. " C-O Monosust. arom.
2	4-OCH <sub>3</sub>	3440 3090-2840 1735 1580 730 830, 810	Tensión O-H " N-H " C=O ácido Defor. N-H Monosust. arom. 1,4-disust. arom.
3	4-CH <sub>3</sub>	3460 3100-2820 1740 1590	Tensión O-H " N-H " C=O ácido Defor. N-H y tensión C=C arom.

TABLA X (cont.)

Nº	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
3	4-CH <sub>3</sub>	1180	Tensión C=O
		740	Monosust. arom.
		820,810	1,4-disust. arom.
4	4-Cl	3400	Tensión O-H
		3100-2900	" N-H
		1730	" C=O ácido
		1580,1560	Defor. N-H y tensión C=C arom.
		1200	Tensión C-O
		790,720	Monosust. arom.
5	3-Cl	840	1,4-disust. arom.
		3500-3350	Tensión O-H
		2950-2800	" N-H
		1735	" C=O ácido
		1585,1560	" C=C arom. y defor. N-H
		1205	" C-O
		705	Monosust. arom.
		790,740	1,3-disust. arom.
		3500-3360	Tensión O-H
		3100-2800	" N-H
6	4-F	1735	" C=O
		1585	Defor. N-H

TABLA X (cont.)

Nº	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
6	4-F	1185 840	Tensión C-O 1,4-disust. arom.
7	3,4-OCH <sub>2</sub> O-	3520-3480 3000-2800 1750 1575 1250, 1185 885, 840	Tensión O-H " N-H " C=O ácido Defor. N-H Tensión C-O 1,3,4-trisust. arom.
8	4-OH	3320-2900 1730 1600, 1875 1520 1215 840	Tensiones O-H y N-H Tensión C=O ácido " C=C arom. y defor. N-H " C=C arom. " C-O 1,4-disust. arom.
9	3-OCH <sub>3</sub> , 4-OH	3500-3350 3200-2900 1750 1610 830, 885	Tensión O-H " N-H " C=O ácido " C=C arom. y defor. N-H 1,3,4-trisust. arom.

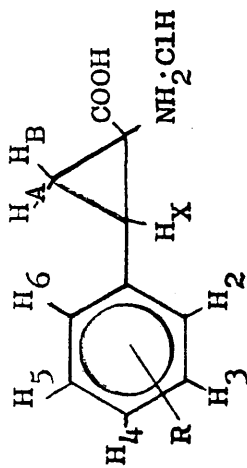
TABLA X (cont.)

Nº	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
10	3-OCH <sub>3</sub>	3500-3300 b.a 3000-2680 b.a 1714 f 1620, 1600 m 1280, 1230 f 720 m 880, 790 m	Tensión O-H " N-H " C=O ácido " C=C arom. y defor. N-H " C-O Monosustitución arom. 1,3-disustitución arom.
11	3-OH	3500-2900 b.a 1730 f 1600 f 700 m 790 m	agua; tensiones O-H y N-H tensión C=O " C=C arom. y defor. N-H Monosustitución arom. 1,3-disustitución arom.
12	3-OH, 4-OCH <sub>3</sub>	3500-3320 b.a 1740 f 1610, 1590 m	Tensión O-H " C=O ácido " C=C arom. y defor. N-H

Todos los espectros se han registrado en pastilla de Brk.

TABLA XI

Espectros RMN de los hidrocloruros de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos



Nº	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
1	H	7.45 3.30 2.00	s t m	5 H arom. 1 H ( $H_X$ ) 2 H ( $H_A + H_B$ )
2	4-OCH <sub>3</sub>	7.28	d	2 H ( $H_2 + H_6$ )
		7.00	d	2 H ( $H_3 + H_5$ )
		3.78	s	3 H (OCH <sub>3</sub> )
		3.14	t	1 H ( $H_X$ )
1.90	m	2 H ( $H_A + H_B$ )	$J_{2,3} = J_{6,5} = 8.6$ $J_{3,2} = J_{5,6} = 8.6$ $J_{XA} = 9.7; J_{XB} = 8.8$ $J_{AX} = 9.7; J_{BX} = 8.8$ $J_{AB} = -6.6$	

TABLA XI (cont.)

Nº	R	Valores $\delta$	Multiplidad-Valores J Hz	Asignaciones
3	4-CH <sub>3</sub>	7.3	s	4 H arom.
		2.35	s	3 H (CH <sub>3</sub> )
		3.22	t	1 H (H <sub>X</sub> )
		1.98	m	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
4	4-Cl	7.50	s	4 H arom.
		3.00	t	1 H (H <sub>X</sub> )
		1.92	m	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
5	3-Cl	7.47	s	4 H arom.
		3.29	t	1 H (H <sub>X</sub> )
		2.05	m	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
				J <sub>XA</sub> =9.7; J <sub>XB</sub> =8.8
				J <sub>AX</sub> =9.7; J <sub>BX</sub> =8.8 J <sub>AB</sub> =-6.6
6	4-F	7.45	c	2 H (H <sub>3</sub> +H <sub>5</sub> )
				J <sub>3,2</sub> =J <sub>5,6</sub> =8.6 J <sub>3,F</sub> =J <sub>5,F</sub> =6
		7.10	d	2 H (H <sub>2</sub> +H <sub>6</sub> )
		3.25	t	1 H (H <sub>X</sub> )
				J <sub>2,3</sub> =J <sub>6,5</sub> =8.6 J <sub>XA</sub> =9.7; J <sub>XB</sub> =8.8

TABLA XI (cont.)

Nº	R	Valores $\delta$	Multiplidad-Valores J Hz	Asignaciones
6	4-F	2.00	m $J_{AX}=9.7$ ; $J_{BX}=8.8$ $J_{AB}=-6.6$	2 H ( $H_A+H_B$ )
7	3,4-OCH <sub>2</sub> O-	6.83	s	3 H arom.
		5.94	s	2 H (OCH <sub>2</sub> O)
8	4-OH	3.13	t $J_{XA}=9.7$ ; $J_{XB}=8.8$	1 H ( $H_X$ )
		1.94	m $J_{AX}=9.7$ ; $J_{BX}=8.8$ $J_{AB}=-6.6$	2 H ( $H_A+H_B$ )
		7.18	d $J_{3,2}=J_{5,6}=8.6$	2 H ( $H_3+H_5$ )
		6.80	d $J_{2,3}=J_{6,5}=8.6$	2 H ( $H_2+H_6$ )
9	3-OH	3.03	t	1 H ( $H_X$ )
		1.83	m	2 H ( $H_A+H_B$ )
		7.29	m	4 H arom.
		6.88	m	
		3.17	t	1 H ( $H_X$ )
		2.00	m	2 H ( $H_A+H_B$ )

TABLA XI (cont.)

Nº	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
10	3-OH, 4-OCH <sub>3</sub>	6.93	m	3 H arom.
		3.85	s	3 H (OCH <sub>3</sub> )
		3.15	t	1 H (H <sub>X</sub> )
		1.96	m	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
11	3-OCH <sub>3</sub> , 4-OH	7.02	m	3 H arom.
		3.90	s	3 H (OCH <sub>3</sub> )
		3.20	t	1 H (H <sub>X</sub> )
		2.00	m	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
12	3-OCH <sub>3</sub>	7.33	m	4 H arom.
		7.01	m	
		3.84	a	3 H (OCH <sub>3</sub> )
		3.25	t	1 H (H <sub>X</sub> )
13	3,4-OH	2.01	m	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
		6.90	m	
		6.61	m	3 H arom.

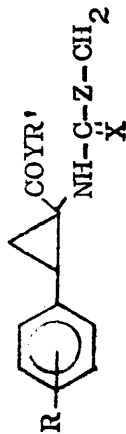
TABLA XI (cont.)

Nº	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
13	3,4-OH	2.85 1.73	t m	1 H ( $H_X$ ) 2 H ( $H_A + H_B$ )

Todos los espectros se han registrado en  $D_2O$  con DDS como referencia interna, excepto el del 4-Cl que se registró en  $(CD_3)_2SO$  con TMS como referencia interna.

TABLA XII

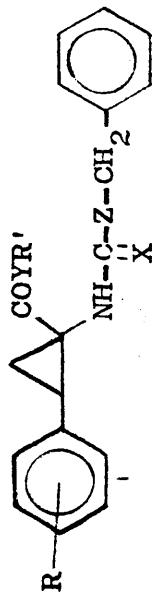
Productos de apertura del anillo de tiazolona



Nº	X	Y	Z	R'	R	P.F.°C	Fórmula	Calculado			Hallado				
								C	H	N	S	C	H	N	S
1	S	O	O	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	81-2	C <sub>20</sub> H <sub>21</sub> O <sub>3</sub> NS	67.85	6.18	4.02	8.74	67.59	5.95	3.94	9.00
2	S	O	O	H	H	128-9	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> O <sub>3</sub> NS	66.91	5.31	4.38	10.12	66.04	5.23	4.27	9.77
3	O	O	O	H	H	158-9	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> O <sub>4</sub> N	69.16	5.51	4.71		69.43	5.50	4.49	
4	S	O	O	CH <sub>3</sub>	H	91-2	C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> O <sub>3</sub> NS	66.66	5.82	4.21	9.20	66.84	5.61	4.10	9.37
5	O	O	O	CH <sub>3</sub>	H	65-6	C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> O <sub>4</sub> N	70.13	5.88	4.30		70.32	6.09	4.43	
8	S	O	S	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	112-7	C <sub>20</sub> H <sub>21</sub> O <sub>2</sub> NS <sub>2</sub>	64.47	5.69	3.77	17.25	64.38	5.65	3.84	17.69
9	S	O	S	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	3-OH	116-9	C <sub>20</sub> H <sub>20</sub> O <sub>3</sub> NS <sub>2</sub>	62.10	5.21	3.61	16.65	62.02	5.46	3.32	16.26

Nº	X	Y	Z	R'	R	P.F.°C	Fórmula	Calculado			Hallado				
								C	H	N	S	C	H	N	S
6	S O	O S	O	H	4-OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	142-3	C <sub>25</sub> H <sub>23</sub> O <sub>4</sub> NS	69.27	5.34	3.23	7.38	69.21	5.45	3.05	7.34
7	O O	O O	O	H	4-OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	182-4	C <sub>25</sub> H <sub>23</sub> O <sub>5</sub> N	71.92	5.55	3.35		71.48	5.47	3.13	

Absorciones IR de los productos de apertura del anillo de tiazolona



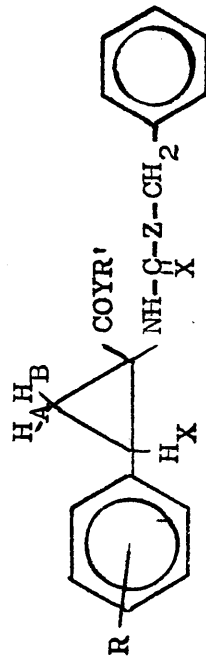
Nº	X	Y	Z	R'	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
1	0	0	0	H	H	3300 1710 1665 1280 750,700	Tensión N-H " C=O ácido " C=O amídico " C-O Monosust. arom.
2	0	0	0	CH <sub>3</sub>	H	3325 1745 1705 1290,1250 750,700	Tensión N-H " C=O ester " C=O amídico " C-O Monosust. arom.
3	0	0	0	H	4-OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	3350 175,1690	Tensión N-H Tensiones C=O ácido y amídico

TABLA XIII (cont.)

Nº	X	Y	Z	R'	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
3	0	0	0	H	4-OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	1250 745,700	Tensión C-O Monosust. arom.
4	S O	O S	O	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	3220 1720 1550	Tensión N-H " C=O ácido " HN-C=S
5	S O	O S	O	H	H	3220 1720 1549	Tensión N-H " C=O ácido " HN-C=S
6	S O	O S	O	CH <sub>3</sub>	H	3220 1725 1550	Tensión N-H " C=O ácido " HN-C=S
7	S O	O S	S	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	3260 1710 1530	Tensión N-H " C=O ácido " HN-C=S
8	S O	O S	S	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	4-OH	3340 1700 1590	Tensión N-H y O-H fenólico " O=O ácido " HN-C=S

Todos los espectros se han registrado en pastilla de BrK.

Espectros RMN de los productos de apertura de anillo de tiazolona



Nº	X	Y	Z	R'	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
1	0	0	0	H	H	7.65	S <sub>a</sub>	1 H (NH)
						7.27	s	10 H arom.
						4.90	S <sub>a</sub>	2 H (OCH <sub>2</sub> )
2						3.00	t	1 H (H <sub>X</sub> )
						1.70	d	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
								$J_{AX}=J_{BX}=8.7$
								$J_{XA}=J_{XB}=8.7$
					H	7.30	s.d	10 H arom.
			CH <sub>3</sub>			5.05	s	2 H (OCH <sub>2</sub> )
						4.85	S <sub>a</sub>	1 H (NH)

TABLA XIV (cont.)

Nº	X	Y	Z	R'	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
2	0	0	0	CH <sub>3</sub>	H	3.73	s	3 H (CH <sub>3</sub> )
	0	0	0			3.00	t.d	1 H (H <sub>X</sub> )
	0	0	0	H	4-OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>	2.90	m	2 H (H <sub>A</sub> +H <sub>B</sub> )
3	0	0	0			7.45	s	5 H arom.
	0	0	0			7.35	s	5 H arom.
	0	0	0			7.05	m	4 H arom.
	0	0	0			5.08	s	4 H 2(OCH <sub>2</sub> )
4	0	0	0			3.04	t.d	1 H (H <sub>X</sub> )
	0	0	0			2.20	m	1 H (H <sub>A</sub> )
	0	0	0			1.75	m	1 H (H <sub>B</sub> )
	0	0	0			7.35	s.d	10 H arom.
	0	0	0	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	4.48	S <sub>a</sub>	2 H (-CX-SCH <sub>2</sub> )
	0	0	0			4.25	c	2 H (CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> )
	0	0	0			3.03	t.d	1 H (H <sub>X</sub> )
0	0	0			2.38	t.d	1 H (H <sub>A</sub> )	

TABLA XIV (cont.)

-195-

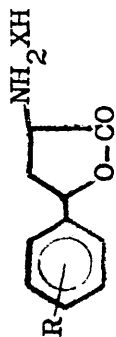
Nº	X	Y	Z	R'	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
4	S	O	S	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	1.80	t.d	1 H (H <sub>B</sub> )
	O	S	S			1.35	t	3 H ( <u>CH</u> <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> )
5	S	O	S	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	4-OH	7.32	s	5 H arom.
	O	S				6.80	m	3 H arom.
6	O	S	O	C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H	4.40	S <sub>a</sub>	2 H (-CX-SCH <sub>2</sub> )
						4.25	c	2 H ( <u>CH</u> <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub> )
						2.99	t.d	1 H (H <sub>X</sub> )
						2.30	t.d	1 H (H <sub>A</sub> )
						1.75	t.d	1 H (H <sub>B</sub> )
						1.21	t	3 H ( <u>CH</u> <sub>3</sub> -CH <sub>2</sub> )
						6.90	s.d	10 H arom.
						6.15 y 5.8	2 S <sub>a</sub>	1 H dos tipos de NH
						4.92 y 4.96	2 c superpuestos	2 H dos tipos de O-CH <sub>2</sub>
						4.08	5 señales	2 H dos tipos de <u>CH</u> <sub>2</sub> CH <sub>3</sub>
3.00	t.d	1 H (H <sub>X</sub> )						

TABLA XIV (cont.)

Nº	X	Y	Z	R'	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
6	O	S	O	$C_2H_5$	H	2.4-1.5	Varios m	2 H dos tipos de $H_A+H_B$
	S	O				1.2	c	3 H dos tipos de $\underline{CH_3}CH_2$
	O	S	O	$CH_3$	H	7.32	s.d	10 H arom.
7	O	S	O			6.8 y 6.3	2 $S_a$	1 H dos tipos de NH
	S	O				5.31	c	
						5.41	s	
						3.61 y 3.72	2 s	2 H dos tipos de $CH_2-O$
						3.10	t.d	3 H dos tipos de $CH_3$
8	O	S	O	H		3.45-1.52	Varios m	1 H ( $H_X$ )
	S	O				7.32	s.d	2 H dos tipos de $H_A+H_B$
						6.5 y 6.2	2 $S_a$	10 H arom.
						9.90	$S_a$	1 H dos tipos de NH
						5.43	s+c	1 H (COOH)
						3.3-2.9	m	2 H dos tipos de $OCH_2$
						2.5-1.55	Varios m	1 H ( $H_X$ )
							2 H dos tipos de $H_A+H_B$	

Todos los espectros se registraron en  $Cl_3CD_3$ -TMS, excepto el nº1 que se hizo en  $(CD_3)_2SO$ -TMS.

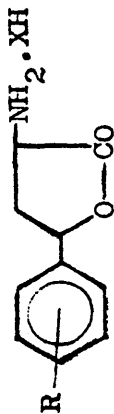
Hidrobromuros (o hidrocloruros) de 2-amino-4-aryl- $\gamma$ -butirolactonas



X= Cl ó Br

Nº	R	P. Fº C	Fórmula	Calculado			Hallado		
				C	H	N	C	H	N
1	H	243-4	C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub> NCl	56.23	5.62	6.56	56.23	5.80	6.86
2	4-OCH <sub>3</sub>	193-4	C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> NBr	45.83	4.89	4.86	46.15	5.01	4.86
3	3,4-OCH <sub>2</sub> O-	205-6	C <sub>11</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub> NBr	43.70	3.97	4.63	43.06	3.67	4.49

Absorciones IR de los hidrobromuros (o hidroclouros) de 2-amino-4-aryl- $\gamma$ -butirolactonas



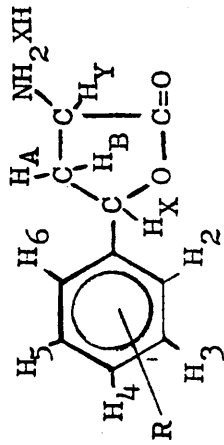
Nº	R	X	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
1	H	Cl	3100-2880 b.a 1785 f 1610, 1585 d 1240, 1210 m 720, 700 m	Tensión $\text{NH}_3^+$ " C=O lactona " C=C arom.; defor. N-H " C-O Monosust. arom.
2	4-OCH <sub>3</sub>	Br	3100-2850 b.a 1800 f 1565 m 1256, 1221 m 840 f	Tensión $\text{NH}_3^+$ " C=O lactona " C=C arom.; defor. N-H " C-O 1,4-disust. arom.
3	4-OH	Br	3080-2850 b.a 1775 f 1620, 1610 m 850 m	Tensión $\text{NH}_3^+$ " C=O lactona " C=C arom.; defor. N-H 1,4-disust. arom.

TABLA XVI (cont.)

Nº	R	X	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
4	3,4-OCH <sub>2</sub> O-	Br	3100-2890 1800 1570 1250, 1195 710 900, 810	Tensión NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> " C=O lactona Defor. N-H Tensión C-O Monosust. arom. 1,3,4-trisust. arom.

Todos los espectros se han registrado en pastilla de BrK.

Espectros RMN de los hidrobromuros (o hidrocloruros) de 2-amino-4-aryl- $\gamma$ -butirolactonas



Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones	
1	Cl	H	9.20	S <sub>a</sub>	3 H (NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	
			7.50	s	5 H arom.	
			5.70	c	J <sub>XB</sub> =10.6; J <sub>XA</sub> =5.3	1 H (H <sub>X</sub> )
			4.68	c	J <sub>YB</sub> =12; J <sub>YA</sub> =8.6	1 H (H <sub>Y</sub> )
			3.16	Octete: J <sub>AX</sub> =5.3; J <sub>AY</sub> =8.6; J <sub>AB</sub> =13	1 H (H <sub>A</sub> )	
			2.38	Sextete: J <sub>BX</sub> =10.6; J <sub>BY</sub> =12; J <sub>BA</sub> =13	1 H (H <sub>B</sub> )	
2	Br	4-OCH <sub>3</sub>	8.85	S <sub>a</sub>	3 H (NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> )	
			7.55	d	J <sub>3,2</sub> =J <sub>5,6</sub> =8.6	2 H (H <sub>3</sub> +H <sub>5</sub> )

TABLA XVII (cont.)

Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
2	Br	4-OCH <sub>3</sub>	7.05	d $J_{2,3}=J_{6,5}=8.6$	2 H (H <sub>2</sub> +H <sub>6</sub> )
			5.65	c $J_{XB}=10.6$ ; $J_{XA}=5.3$	1 H (H <sub>X</sub> )
			4.73	c $J_{YB}=12$ ; $J_{YA}=8.6$	1 H (H <sub>Y</sub> )
			3.80	s	3 H (OCH <sub>3</sub> )
			3.10	Octete: $J_{AX}=5.3$ ; $J_{AY}=8.6$ ; $J_{AB}=13$	1 H (H <sub>A</sub> )
			2.40	Sextete: $J_{BX}=10.6$ ; $J_{BY}=12$ ; $J_{BA}=13$	1 H (H <sub>B</sub> )
3	Br	4-OH	7.42	d $J_{3,2}=J_{5,6}=8.6$	2 H (H <sub>3</sub> +H <sub>5</sub> )
			6.96	d $J_{2,3}=J_{5,6}=8.6$	2 H (H <sub>2</sub> +H <sub>6</sub> )
			5.67	o $J_{XB}=10.6$ ; $J_{XA}=5.3$	1 H (H <sub>X</sub> )
			4.70	Enmascarado por el D <sub>2</sub> O	1 H (H <sub>Y</sub> )
			3.15	Octete: $J_{AX}=5.3$ ; $J_{AY}=8.6$ ; $J_{AB}=13$	1 H (H <sub>A</sub> )
			2.47	Sextete: $J_{BX}=10.6$ ; $J_{BY}=12$ ; $J_{BA}=13$	1 H (H <sub>B</sub> )
4	Br	3-OH	7.10	m	4 H arom.
			5.65	c $J_{XB}=10.6$ ; $J_{XA}=5.3$	1 H (H <sub>X</sub> )
			4.70	Enmascarado por el D <sub>2</sub> O	1 H (H <sub>Y</sub> )

TABLA XVII (cont.)

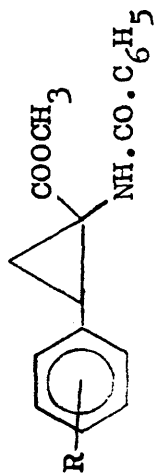
Nº	X	R	Valores $\delta$	Multiplícidad-Valores J Hz	Asignaciones
4	Br	3-OH	3.20 2.40	Octete: $J_{AX}=5.3$ ; $J_{AY}=8.6$ ; $J_{AB}=13$ Sextete: $J_{BX}=10.6$ ; $J_{BY}=12$ ; $J_{BA}=13$	1 H ( $H_A$ ) 1 H ( $H_B$ )
5	Br	3,4-OCH <sub>2</sub> O-	7.00 6.52 5.65 4.72 3.18 2.45	m s c Enmascarado por el D <sub>2</sub> O Octete: $J_{AX}=5.3$ ; $J_{AY}=8.6$ ; $J_{AB}=13$ Sextete: $J_{BX}=10.6$ ; $J_{BY}=12$ ; $J_{BA}=13$	3 H arom. 2 H (OCH <sub>2</sub> O) 1 H ( $H_X$ ) 1 H ( $H_Y$ ) 1 H ( $H_A$ ) 1 H ( $H_B$ )

En los números 1 y 2 se han utilizado como disolventes D<sub>2</sub>O (DDS como referencia) y (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO (TMS como referencia)

Los números 3, 4 y 5 se han registrado solo en D<sub>2</sub>O-DDS

TABLA XVIII

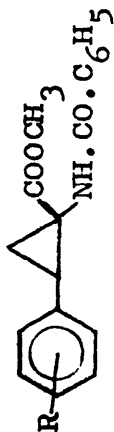
(Z)-1-benzamido-2-aril-ciclopropanocarboxilatos de metilo



Nº	R	P. F.º C	Fórmula	Calculado			Hallado		
				C	H	N	C	H	N
1	H	164-5	C <sub>18</sub> H <sub>17</sub> O <sub>3</sub> N	73.20	5.80	4.74	73.45	5.73	4.58
2	4-OCH <sub>3</sub>	174-5	C <sub>19</sub> H <sub>19</sub> O <sub>4</sub> N	70.13	5.88	4.30	70.36	5.78	4.42

TABLA XIX

Absorciones IR de (Z)-1-benzamido-2-aril-ciclopropanocarboxilatos de metilo

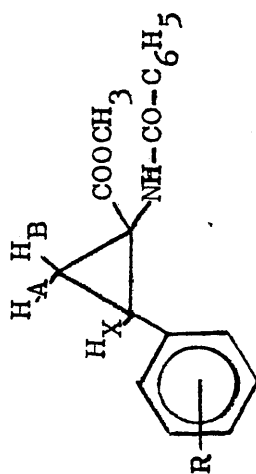


Nº	R	Absorción $\text{cm}^{-1}$	Asignaciones
1	H	3320	Tensión N-H
		1740	" C=O ester
		1640	" C=O (amida I)
		1535	Flexión N-H (amida II)
2	4-OCH <sub>3</sub>	3295	Tensión N-H
		1725	" C=O ester
		1660	" C=O (amida I)
		1550	Flexión N-H (amida II)

Estos espectros se registraron en pastilla de BrK.

TABLA XX

Espectros RMN de (Z)-1-benzamido-2-aril-ciclopropanocarboxilatos de metilo



Nº	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
1	H	7.30	m	10 H arom.
		6.13	s	1 H (NH-CO)
		3.70	s	3 H (-COOCH <sub>3</sub> )
		3.05	c	1 H (H <sub>X</sub> )
		2.29	c	1 H (H <sub>A</sub> )
		1.86	c	1 H (H <sub>B</sub> )
		2	4-OCH <sub>3</sub>	7.35
7.10	d			2 H arom. disust. J=8
6.84	d			2 H arom. disust. J=9
5.99	s			1 H (NH-CO)
3.76	s			3 H (OCH <sub>3</sub> )

TABLA XX (cont.)

Nº	R	Valores $\delta$	Multiplicidad-Valores J Hz	Asignaciones
2	4-OCH <sub>3</sub>	3.71	s	3 H (-COOCH <sub>3</sub> )
		2.98	c	1 H (H <sub>X</sub> )
		2.29	c	1 H (H <sub>A</sub> )
		1.78	c	1 H (H <sub>B</sub> )

Estos espectros se han registrado en Cl<sub>3</sub>CD con TMS como referencia interna.

PARTE IV

ACTIVIDADES DE LOS ACIDOS 1-AMINO-2-ARIL-CICLOPROPANOCARBO-  
XILICOS COMO SUSTRATOS Y COMO INHIBIDORES DE LA DESCARBOXI-  
LASA DE L-AMINOACIDOS AROMATICOS

## INTRODUCCION

El objeto de este capítulo es recoger y comentar los resultados de las experiencias efectuadas a fin de evaluar el comportamiento de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropano carboxílicos obtenidos y caracterizados como se ha descrito en las Partes II y III de esta Memoria, como sustratos e inhibidores de la descarboxilasa de L-aminoácidos aromáticos, con el fin de poder valorar su posible interés biológico y potencialmente farmacológico, de acuerdo con los planteamientos hechos en la Parte I de esta Memoria.

Con este fin, se precisa ahora un método adecuado para la determinación de la descarboxilasa de L-aminoácidos aromáticos. Por ello, comentamos seguidamente los métodos más usuales y las razones que nos llevaron a la elección del más clásico entre ellos, el método manométrico.

### Comentario a los métodos de determinación de la descarboxilasa de L-aminoácidos aromáticos (1) (2) (74)

Ordinariamente, esta enzima se determina por unos de los tres procedimientos siguientes: a) método manométrico; b) método espectrométrico; c) método radiométrico.

El método manométrico, que es clásico en este sentido y en la determinación de cualquier descarboxilasa, se basa en la determinación del volumen de  $\text{CO}_2$  producido en la reacción de descarboxilación (75) (76) (77). Por esta razón, el método es relativamente poco sensible, pero tiene la enorme ventaja de ser de aplicación general a cualquier sustrato y de muy cómoda aplicación en cualquier laboratorio familiarizado con las técnicas manométricas.

Los métodos espectrométricos, se basan en la determinación de la amina formada en la reacción y en particular los espectrofluorométricos (8) (78), son mucho más sensibles que aquél, pero tienen dos inconvenientes. En primer término,

exigen una elaboración específica para cada sustrato a utilizar, es decir son específicos para cada sustrato y de aplicación no general; en segundo lugar, la amina formada en la reacción, antes de poder ser evaluada de forma colorimétrica, espectrofotométrica, espectrofluorimétrica o por cualquier otro procedimiento, debe ser separada del exceso de sustrato, lo cual exige técnicas refinadas y no siempre cuantitativas, dando origen a la introducción de factores de corrección no siempre reproducibles.

Finalmente, los métodos radiométricos se basan en el empleo de sustratos marcados con isótopos radioactivos. Aunque se han descrito métodos muy elaborados, p. ej. con L-Dopa (79) marcado con  $C^{14}$  o  $H^3$ , no en el grupo  $-COOH$ , lo que da origen a la formación y posterior determinación de dopamina ( $C^{14}$  o  $H^3$ ), el método radiométrico más común y de uso general se basa en el empleo de sustratos marcados con  $C^{14}$  en el grupo  $-COOH$  del aminoácido. Este procedimiento produce  $^{14}CO_2$  (gas), que se absorbe por una base -generalmente KOH o hyamina- y se somete a contaje por centelleo en solución (10) (80). Este es un método completamente general y quizás el más sensible y preciso de todos. La única exigencia es disponer del aminoácido a utilizar como sustrato, marcado con  $C^{14}$  en su  $-COOH$ .

Puesto que nuestro propósito es el ensayo de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos, como sustratos, por una parte, de la descarboxilasa de aminoácidos aromáticos, y como inhibidores, por otra parte, de la descarboxilación de L-Dopa por la misma enzima, es evidente que el método más adecuado, general y simple, es el método manométrico, pese a su relativamente baja sensibilidad. Por otra parte, nuestro objetivo es ahora esencialmente exploratorio y los resultados dirán si para un estudio más detallado es conveniente el uso de otro método.

Independientemente, las técnicas manométricas son familiares en el laboratorio en que se ha desarrollado nuestro trabajo, disponiendo del equipo y asesoramiento necesarios, lo cual hizo muy fácil familiarizarnos con ellos, y aplicarlos en nuestro trabajo.

## PARTE EXPERIMENTAL Y RESULTADOS

### 1.- Preparación de Dopa descarboxilasa de riñón de cerdo

Se ha seguido el método de Schales (76) con pequeñas - modificaciones.

Riñones de cerdo frescos (120 g), adquiridos en el mer cado, se trocean en pequeños fragmentos con un cuchillo, se suspenden en un volumen en  $\text{cm}^3$  alrededor de tres veces su peso en gramos ( $360 \text{ cm}^3$ ) de tampón frío de fosfato sódico - M/15,  $\text{pH}=6.8$  y la suspensión se homogeniza en un homogenizado r Sorvall (o en una batidora Turmix), enfriando con hielo, durante 4 intervalos de  $\frac{1}{2}$ -1 min., con descansos de 1 min., de modo que la temperatura se mantenga alrededor de  $2-4^\circ\text{C}$ .

El homogeneizado obtenido se centrifuga en la cámara - fría ( $0-2^\circ\text{C}$ ) en una centrífuga Sorvall SS-3, rotor SS-34, - durante 20-25 min. a 15000 RPM ( $\approx 20000\text{g}$ ) y el sedimento obte nido se descarta. Con el sobrenadante se repite la centrifi gación en las mismas condiciones, descartando de nuevo el sedimento. Se obtiene un sobrenadante de color rojizo y limpi o ( $V \approx 400 \text{ cm}^3$ ).

La solución anterior se fracciona por adición de sulfa to amónico sólido, manteniendo la solución fría y a  $\text{pH} \approx 6.8$  por adición cuidadosa, si es necesario, de hidróxido amónico diluido 1:1 (v/v). A este fin se sumerge en la solución el electrodo de un medidor de pH. La solución se lleva prime ro al 15% (p/v) en  $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$  por adición lenta y bajo suave agitación de 15 g de  $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$  sólido a  $100 \text{ cm}^3$  de soluci ón (total 60 g). La suspensión obtenida se centrifuga como antes a  $20000\text{g}$  y el sedimento se descarta. Al sobrenadante se añade ahora más  $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$  hasta llevarlo al 30% (p/v) (60 g de  $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2/100 \text{ cm}^3$  de solución inicial), mediante - la adición gradual y con suave agitación de otros 60 g de -

$\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$ . La suspensión obtenida se centrifuga como antes a 20000g, el sobrenadante limpio se descarta y el precipitado obtenido entre 15-30% (p/v) de  $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$  se suspende en  $75 \text{ cm}^3$  de tampón de fosfato sódico, M/15, pH=6.8.

La solución enzimática obtenida se dializa contra un gran volumen de tampón de fosfato sódico, en la cámara fría, durante unas 24 h, con 3 cambios de las aguas de diálisis. La solución dializada se clarifica por centrifugación durante 1/2-3/4 h en la centrífuga Sorvall, a 15000 RPM, y el sedimento se descarta. Se tiene una solución enzimática ( $v \approx 150-160 \text{ cm}^3$ ), prácticamente incolora, que contiene alrededor de 85-90% de la actividad del homogeneizado inicial y alrededor de 28 mg proteína/ $\text{cm}^3$  (microbiuret).

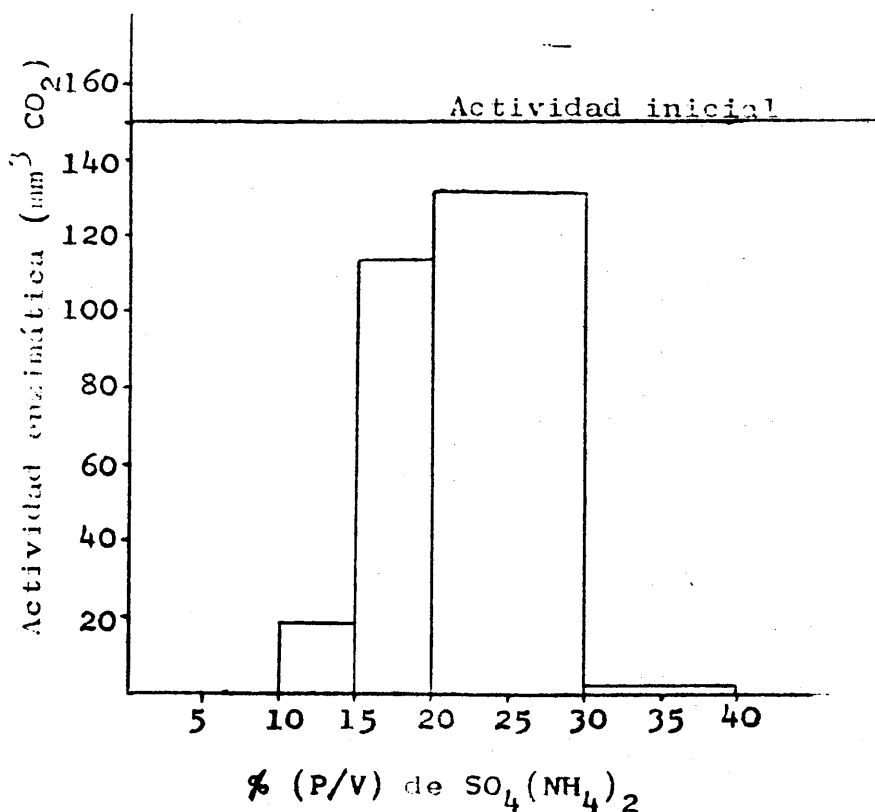


Fig.1 Fraccionamiento con  $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$  de soluciones de Dopa descarboxilasa

La solución pierde gradualmente actividad cuando se conserva a 0-2°C. Se conserva mucho mejor congelada. Para ello, la solución obtenida se distribuyó en tubos con 10-15cm<sup>3</sup> que se sometieron a congelación y se conservaron alrededor de -10°C.

El método seguido en el fraccionamiento con SO<sub>4</sub>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> - está basado en experiencias propias y previas a la adopción del método descrito, que se ilustran en la figura 1, de la que se deduce precipitación óptima de la enzima entre 15-30% (p/v) de SO<sub>4</sub>(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>.

## 2.- Determinación manométrica de Dopa-descarboxilasa

Se ha empleado una adaptación del método descrito por Schales y col. (76), (77), utilizando un respirómetro de - Warburg comercializado por B. Braum, Melsungen (Alemania) - equipado con 14 manómetros y utilizando vasitos de reacción de 20 cm<sup>3</sup>, provistos de dos ramas laterales. Los manómetros, previo calibrado con el correspondiente vasito, se cargaron - con solución Brodie (Brodie's solution, Type TF II, A-Th, - B. Braun, Melsungen) de densidad 1.033 a 25°C.

Todos los vasitos de reacción y manómetros se calibra- ron volumétricamente con mercurio bidestilado y a temperatu- ra ambiente, según las descripciones publicadas a este fin - (75).

Con los datos volumétricos obtenidos se calcularon para cada pareja manómetro-vaso de reacción, las correspondientes constantes K<sub>CO<sub>2</sub></sub> (75), dadas por la fórmula:

$$K_{CO_2} = \frac{V_g \cdot 273/T + \alpha \cdot V_f}{P_o}$$

$V_f$  = Volumen total de la mezcla de reacción en cada vasito =  
= 4.75 cm<sup>3</sup>

$V_g$  = Volumen total de la fase gaseosa =  $V - V_f$

$V$  = Volumen total de cada pareja manómetro-vasito de reacción determinado por calibrado con mercurio bidestilado.

$T$  = Temperatura a la que se realizan las experiencias en °K =  
= 310°K

$\alpha$  = Coeficiente de solubilidad del CO<sub>2</sub> en ácido sulfúrico -  
0.2 N a 37°C = 0.567 cm<sup>3</sup> de gas/ml solución

$P_o$  = Valor equivalente de 1 atm. (760 mm Hg) en altura de líquido Brodie ( $d=1.033$ ) = 10000 mm.

Con todos estos datos y calculados los valores de las constantes  $K_{CO_2}$  para cada pareja manómetro-vasito a 37°C, - en cada experiencia se calcula el volumen de CO<sub>2</sub> producido por la mezcla de reacción a partir de los cambios de presión manométrica ( $\Delta h$ ) por la fórmula (75).

$$V (CO_2) = K_{CO_2} \cdot \Delta h_{corr.}$$

a) Determinación de la actividad enzimática (76) (77)

Cada vaso de reacción problema contenía las siguientes disoluciones:

Vasito

- 1.- 2.75 cm<sup>3</sup> de tampón de fosfato sódico M/15, pH=6.8
- 2.- 1.00 cm<sup>3</sup> de solución enzimática en tampón de fosfato
- 3.- 0.25 cm<sup>3</sup> de solución de piridoxal-5'-fosfato (sal disódica)

Tubo lateral 1

- 4.- 0.50 cm<sup>3</sup> de solución de L-Dopa  $2.25 \cdot 10^{-2} M$

Tubo lateral 2

- 5.- 0.25 cm<sup>3</sup> de ácido sulfúrico 2.5 N

$V = 4.75 \text{ cm}^3$  = Volumen total final de fase líquida

Cada vaso de reacción-blanco contenía la misma mezcla, excepto que los  $1.00 \text{ cm}^3$  de solución enzimática eran sustituidos por  $1.00 \text{ cm}^3$  de tampón de fosfato sódico, M/15, pH=6.8.

Todos los experimentos se realizaron por duplicado, y utilizando un termobarómetro como blanco corrector de los cambios de presión ambiental.

Cada vaso de reacción era colocado en el baño termostático del respirómetro Warburg, equilibrado a  $37^\circ\text{C}$ , y desalojado el aire del mismo mediante paso de corriente de  $\text{N}_2$  (\*), durante 10-15 min. Seguidamente se cerraban las válvulas de los vasos de reacción y, una vez estabilizadas las presiones interiores de los mismos, se procedía al vertido a la mezcla de reacción del sustrato desde el correspondiente tubo lateral. En cada caso, la reacción enzimática se dejó proceder durante 15 min, transcurridos los cuales se cortaba por adición del ácido sulfúrico desde su correspondiente tubo lateral, con lo cual se produce el desprendimiento de  $\text{CO}_2$ . Los vasos de reacción se mantuvieron bajo agitación continua, hasta que las lecturas de cambios de presión se estabilizan, para efectuar la lectura final y deducir  $\Delta h$ . Esto precisa una espera de 15-20 min. Finalmente, se procedía a calcular  $V(\text{CO}_2)$  para cada caso, previa las oportunas correcciones de  $\Delta h$  por blancos o cambios de presión ambiente medidos por el termobarómetro (75).

En todas las experiencias los componentes 1,4 y 5 de la mezcla de reacción fueron invariablemente los indicados. Por tanto, la concentración de tampón fosfato en el medio fue 0.055 M, y la concentración de sustrato  $2.5 \cdot 10^{-3} \text{M}$ , la

---

(\*) El operar en atmósfera inerte de  $\text{N}_2$  tiene por objeto evitar que se puedan falsear las medidas por consumo de oxígeno en reacción enzimática catalizada por monoaminoxidasas, ordinariamente presentes en la preparación enzimática, al actuar sobre la amina producida por la descarboxilasa.

cual es sobradamente saturante para la enzima, pues  $K_m = 1.9 \cdot 10^{-4} M$  (74). La concentración de los demás componentes de la mezcla de reacción (enzima y piridoxal-5'-fosfato) fué variable según la experiencia, como se indicará en cada caso.

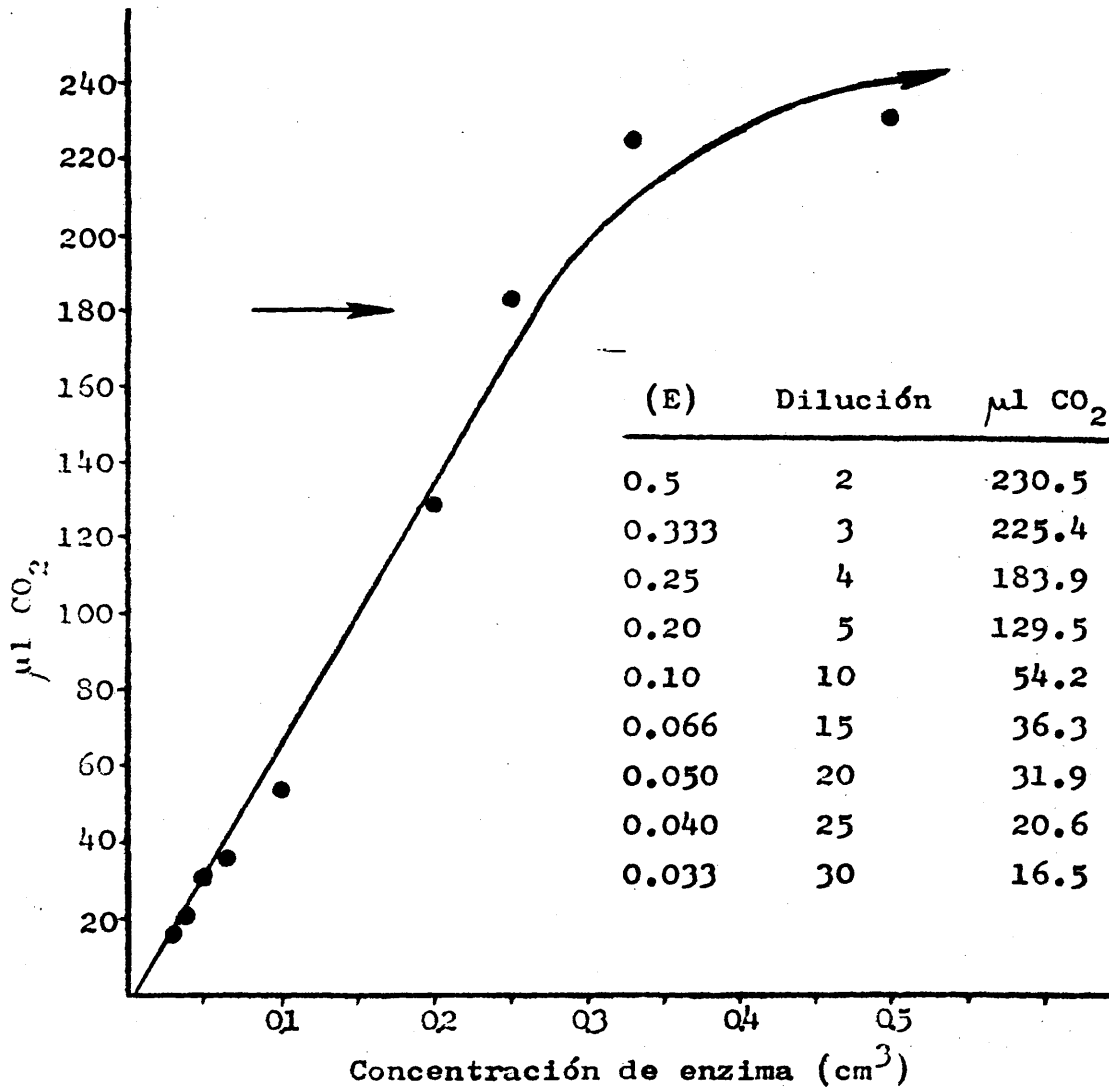
Experiencias de comprobación general y puesta a punto, indicaron, en nuestras manos, que la desviación media para medidas formalmente idénticas es, generalmente del 5% y excepcionalmente hasta el 10%.

#### b) Efecto de la concentración de enzima

Con el fin de determinar que cantidad de enzima debe utilizarse como máximo en cada experiencia, a fin de estar seguros de medir velocidades iniciales de reacción, en condiciones en que la cinética de la reacción sea de orden cero respecto a (S) y de primer orden respecto a (E), se efectuaron experiencias a concentración de enzima variable y concentración de fosfato de 5'-piridoxal de  $8 \cdot 10^{-5} M$  en el medio de reacción (esta concentración, como se verá después, es saturante). Por lo demás, la composición del medio de reacción fue siempre la descrita en el apartado a). Con este fin se prepararon diluciones de la solución enzimática, en tampón de fosfato sódico M/15, pH=6.8 y en las siguientes proporciones: 1/2; 1/3; 1/4; 1/5; 1/10; 1/15; 1/20; 1/25; y 1/30 y seguidamente se determinó en cada caso la actividad enzimática, como se describió en el apartado a). La fig. 2 ilustra los resultados.

Los resultados demuestran que, bajo las condiciones experimentales utilizadas, la producción de  $CO_2$  por la mezcla de reacción y por lo tanto la velocidad de la reacción es proporcional a la concentración de enzima (E) independiente de (S), al menos hasta  $180 \mu l CO_2$ . A partir de este momento se pierde la linealidad en la fig. 2, probablemente porque la concentración residual de sustrato deja ya de ser

Fig. 2. Relación entre velocidad de reacción y concentración de enzima.



saturante para la enzima. Un cálculo aproximado también lo demuestra. En efecto, suponiendo que la enzima está prácticamente saturada de sustrato cuando  $(S) \geq 6 K_m$  (lo cual supone que  $V \simeq 0.9 V_m$ ), la variación de la velocidad de reacción puede empezar a dejar de ser lineal respecto a la concentración de enzima, para  $(S) \leq 6 \cdot 1.9 \cdot 10^{-4} = 1.1 \cdot 10^{-4} M$ . Cuando esto ocurre, se han descarboxilado  $6.3 \cdot 10^{-3}$  moles de sustrato, para producir  $164 \mu l CO_2$ , medidos a temperatura y presión ambientes ( $25^\circ C$ ,  $710 mmHg$ ). Esta cifra está en concordancia con la experimental.

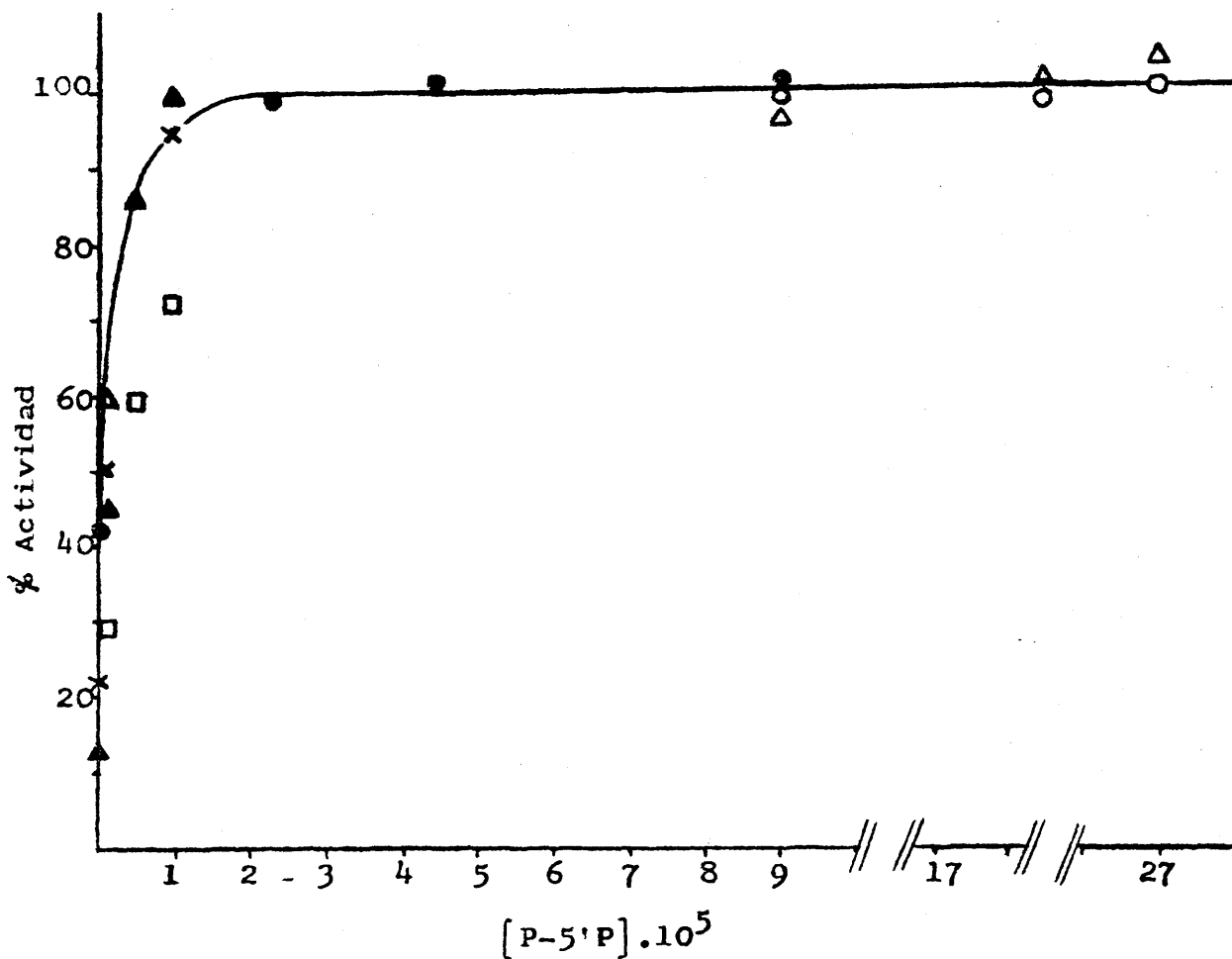
En conclusión, bajo las condiciones experimentales utilizadas, las medidas de velocidad de reacción son proporcionales a la concentración de enzima y representan velocidades iniciales de reacción para producciones  $\leq 180 \mu l CO_2$ . También es evidente que para ampliar la zona de linealidad de la fig. 2, bastaría emplear concentraciones de sustrato más altas, a no ser que haya inhibición por altas concentraciones de sustrato. Este valor máximo de producción de  $CO_2$  es muy adecuado para nuestro trabajo.

c) Dependencia de la velocidad de reacción de la concentración de fosfato de 5'-piridoxal

La Dopa descarboxilasa contiene fosfato de 5'-piridoxal como coenzima y se activa por el mismo e inhibe por altas concentraciones (10). A fin de fijar su concentración óptima, se efectuaron experiencias a concentración variable, siendo las demás condiciones experimentales las descritas en el apartado a).

Los resultados de diversas experiencias, efectuadas en diferentes fechas y con diferentes preparaciones de enzima se resumen en la fig. 3

Fig. 3. Activación de Dopa-descarboxilasa por piridoxal-5'-fosfato.



O; ●; □; △; ▲; x = Resultados de diferentes experiencias.

En efecto, la enzima se activa por fosfato de 5'-piridoxal. Para concentraciones de éste de  $2.10^{-5}$  M en el medio, se alcanza un máximo de activación y la velocidad de reacción prácticamente se duplica respecto a la obtenida sin adición de coenzima. La velocidad se mantiene máxima para adiciones de coenzima de  $2.10^{-5}$  M a  $2.7 \cdot 10^{-4}$  M. Algunas experiencias adicionales mostraron que concentraciones más -

altas producen inhibición (10). En consecuencia, en las determinaciones de rutina y salvo que se indique lo contrario, se incorporó al medio de reacción fosfato de 5'-piridoxal a concentración  $8 \cdot 10^{-5} M$ .

La fig. 4, muestra que esta activación por fosfato de 5'-piridoxal sigue una cinética de tipo michaeliano (81), - puesto que al representar  $1/\mu CO_2$  producido frente a  $1/(P-5'-P)$  según un diagrama de Lineweaver-Burk (81) se obtiene una línea recta:

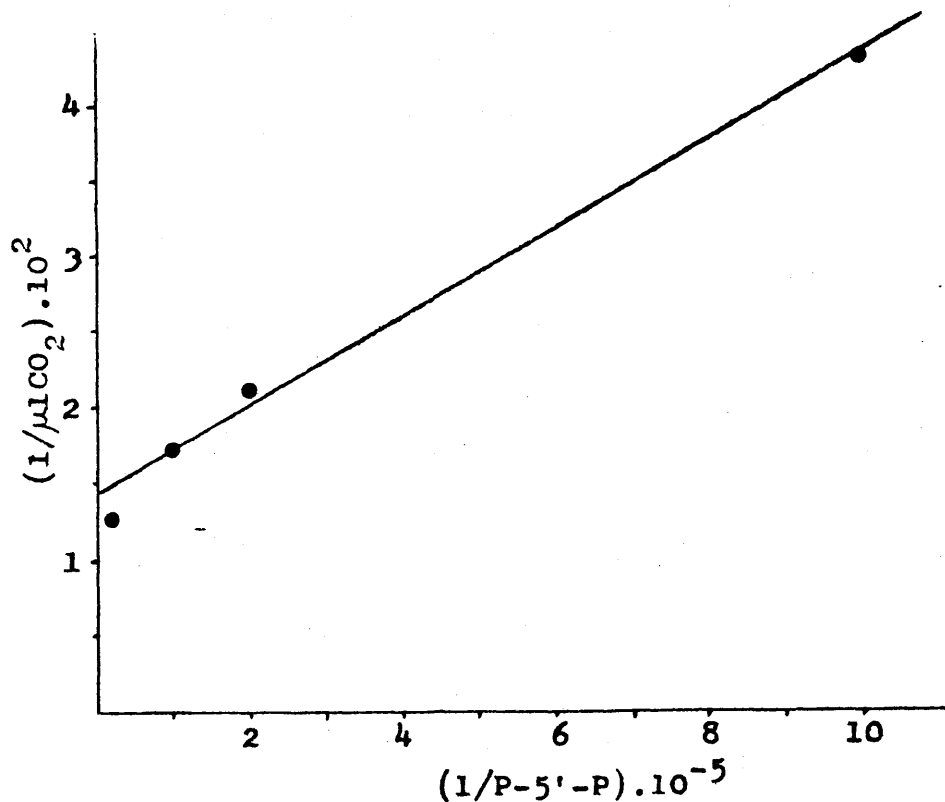


Fig. 4 Diagrama de Lineweaver-Burk para la activación de -  
Dopa descarboxilasa por fosfato de 5'-piridoxal.

### 3.- Ensayo de productos como sustrato de Dopa descarboxilasa

Los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos, preparados como se describió en las Partes II y III de esta Memoria se ensayaron, bajo condiciones patrón, como posibles sustratos de la Dopa descarboxilasa. Las condiciones experimentales fueron las mismas detalladas en el apartado 2a), - con los siguientes detalles: a) concentración de piridoxal-5'-P= $8.10^{-5}$ M; b)  $0.50 \text{ cm}^3$  de solución del compuesto en tampón fosfato M/15 pH=6.8,  $2.25.10^{-2}$ M, colocados en el tubo lateral 1, en sustitución del L-Dopa; así pues, en el medio de reacción cada producto ensayado como sustrato queda a concentración de  $2.5.10^{-3}$ M.

En cada caso se utilizó un vaso de reacción como blanco en el que se ponía  $1.00 \text{ cm}^3$  de tampón de fosfato M/15, - pH=6.8, en vez de  $1.00 \text{ cm}^3$  de solución enzimática. Estos blancos siempre dieron, tras su corrección con el termobarómetro  $\Delta h_{\text{corr.}}=0$ . Es decir, en ningún caso hubo descarboxilación espontánea. Asimismo, todas las lecturas manométricas fueron corregidas en relación con los cambios de presión ambiente por medio de un termobarómetro. Las experiencias se realizaron por duplicado, y el tiempo de reacción fue 30 min.

La tabla 1 resume con un ejemplo la disposición de los resultados de las medidas para los cálculos. La tabla 2 resume los resultados.

Los resultados mostrados en la tabla 2 sugieren que - ninguno de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos ensayados sirve como sustrato a la Dopa descarboxilasa, al menos si se comparan con el L-dopa.

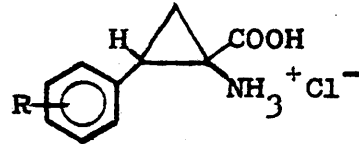
Los valores de producción de  $\text{CO}_2$  con estos compuestos - son  $< 6\%$  del producido con L-Dopa, y caen dentro de los errores experimentales del método de ensayo.

Tabla 1. Disposición de cálculos con resultados experimentales.

	Termobarómetro	Compuesto 1: $2.5 \cdot 10^{-3}M$		L-Dopa: $2.5 \cdot 10^{-3}M$	
Lectura a $t=0$	158.0	158.0	159.5	159.5	160.0
Lectura a $t=30$ min.	157.0	158.0	162.5	215.0	224.0
$\Delta h$	-1.0	0.0	3.0	55.5	64.0
$\Delta h$ (corr.)	—	1.0	4.0	56.5	65.0
$K_{CO_2}$	—	1.7	1.72	1.88	1.76
$\mu l CO_2$		1.7	6.9	106	115
$\mu l CO_2$ (media)		4.3		110	
Actividad %		3.9		100	

Nota. Se han omitido de la tabla los datos para los vasos de reacción-blanco que median la descarboxilación espontánea (no enzimática). Estos blancos, corregidos por el termobarómetro siempre dieron  $\Delta h(\text{corr.})=0$ .

Tabla 2. Resultados de los ensayos como sustratos de L-Dopa descarboxilasa de los compuestos que se indican, y comparación con L-Dopa.



Nº	R	$\mu\text{l CO}_2$	% Actividad
<u>Experiencia 1</u>			
0	L-Dopa	110.3	100.0
1	R=H	4.3	3.9
2	R=4-metoxi	2.4	2.1
3	R=3-metoxi	4.3	3.8
4	R=3,4-metiléndioxi	1.3	1.2
<u>Experiencia 2</u>			
0	L-Dopa	119.7	100.0
5	R=4-cloro	5.1	4.2
6	R=3-cloro	-0.4	-0.3
7	R=4-fluor	-0.1	-0.1
8	R=4-metil	3.4	2.8
<u>Experiencia 3</u>			
0	L-Dopa	106.7	100.0
9	R=4-hidroxi	3.4	3.2
10	R=3-hidroxi	0.9	0.8
11	R=3-hidroxi-4-metoxi	5.8	5.4
12	R=3-metoxi-4-hidroxi	5.8	5.4

Para excluir la posibilidad de su comportamiento como malos sustratos, pero que al fin pudieran ser muy lentamente descarboxilados, se repitieron experiencias por duplicado con los compuestos 10 y 1 de la tabla 2, con largos tiempos de incubación, bajo las mismas condiciones experimentales. Los resultados se muestran en la tabla 3.

Tabla 3 Incubación a largo tiempo de los compuestos 1 y 10 con Dopa descarboxilasa (ver tabla 2)

Nº	R	µl CO <sub>2</sub> producidos		
		1 h	3 h	16 h
1	R=H	0.2	0.1	0.1
10	R=3-hidroxi-	0.3	0.1	0.0

Los resultados indican que los compuestos no sirven como sustratos de la L-Dopa descarboxilasa, dentro de los límites de error del método de ensayo.

4.- Ensayo de productos como inhibidores de la descarboxilación de L-Dopa por Dopa descarboxilasa

Los compuestos 1 a 12, cuyas estructuras se muestran en la tabla 2, se ensayaron a concentración  $2.5 \cdot 10^{-3} M$  como posibles inhibidores de la descarboxilación de L-Dopa ( $2.5 \cdot 10^{-3} M$ ) por la Dopa descarboxilasa. El sistema de ensayo fue similar al detallado en el apartado 2a), con la siguiente disposición:

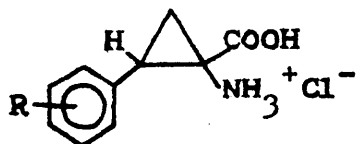
Vasito

- 1.-  $2.25 \text{ cm}^3$  tampón fosfato sódico M/15, pH=6.8
- 2.-  $1.00 \text{ cm}^3$  solución enzimática en el mismo tampón
- 3.-  $0.25 \text{ cm}^3$  solución de (P-5'-P)  $1.4 \cdot 10^{-3} M$ , para quedar en el medio  $8 \cdot 10^{-5} M$
- 4.-  $0.50 \text{ cm}^3$  solución del compuesto de ensayo como inhibidor en tampón fosfato para quedar en el medio  $2.5 \cdot 10^{-3} M$

---

$V = 4.00 \text{ cm}^3$  (volumen total del vasito)

Tabla 4. Resultados de las experiencias de inhibición de la descarboxilación de L-Dopa por Dopa-descarboxilasa por los compuestos indicados:



Nº	R	% Actividad	% Inhibición
0	L-Dopa	100	0
1	R=H	105	-5
2	R=4-metoxi	93	7
3	R=3-metoxi	107	-7
4	R=3,4-metiléndioxi	106	-6
5	R=4-cloro	103	-3
6	R=3-cloro	103	-3
7	R=4-fluoro	82	18
8	R=4-metil	98	2
9	R=4-hidroxi	25	75
10	R=3-hidroxi	27	73
11	R=3-hidroxi-4-metoxi	14	86
12	R=3-metoxi-4-hidroxi	25	75

$V = 4.00 \text{ cm}^3$  (volumen total del vasito)

Tubo lateral 1

5.-  $0.50 \text{ cm}^3$  solución de L-Dopa  $2.25 \cdot 10^{-2} \text{ M}$ , para quedar en el medio  $2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$

Tubo lateral 2

6.-  $0.25 \text{ cm}^3$  de ácido sulfúrico 2.5 N

$V = 4.75 \text{ cm}^3$  (volumen total final de fase líquida)

En cada caso se usó un blanco en el que la solución enzimática se sustituía por tampón. Estos blancos siempre dieron  $\Delta h$  nulos o despreciables. En cada caso, antes de añadir el sustrato L-Dopa desde el tubo lateral 1 al medio de reacción, las mezclas de los vasitos se incubaron 20-30 min. a  $-37^\circ \text{C}$ . Es decir, los ensayos se efectuaron con 20-30 min. de preincubación de la enzima y del fosfato de piridoxal con el supuesto inhibidor, en ausencia de L-Dopa. Todos los experimentos se hicieron al menos por duplicado.

Los cálculos se efectuaron de modo similar a como se ilustró en la tabla 1. Los resultados finales se resumen en la tabla 4.

Los resultados de la tabla 4 muestran que los compuestos 1 a 8, o no son inhibidores, o muestran grados de inhibición pequeños. No ocurre lo mismo con los compuestos 9 a 12, que muestran inhibiciones del 73-85%, bajo las condiciones de ensayo. De todos modos, dada la concentración ( $2.5 \cdot 10^{-3} \text{ M}$ ) a que han sido ensayados, aún estas inhibiciones son modestas.

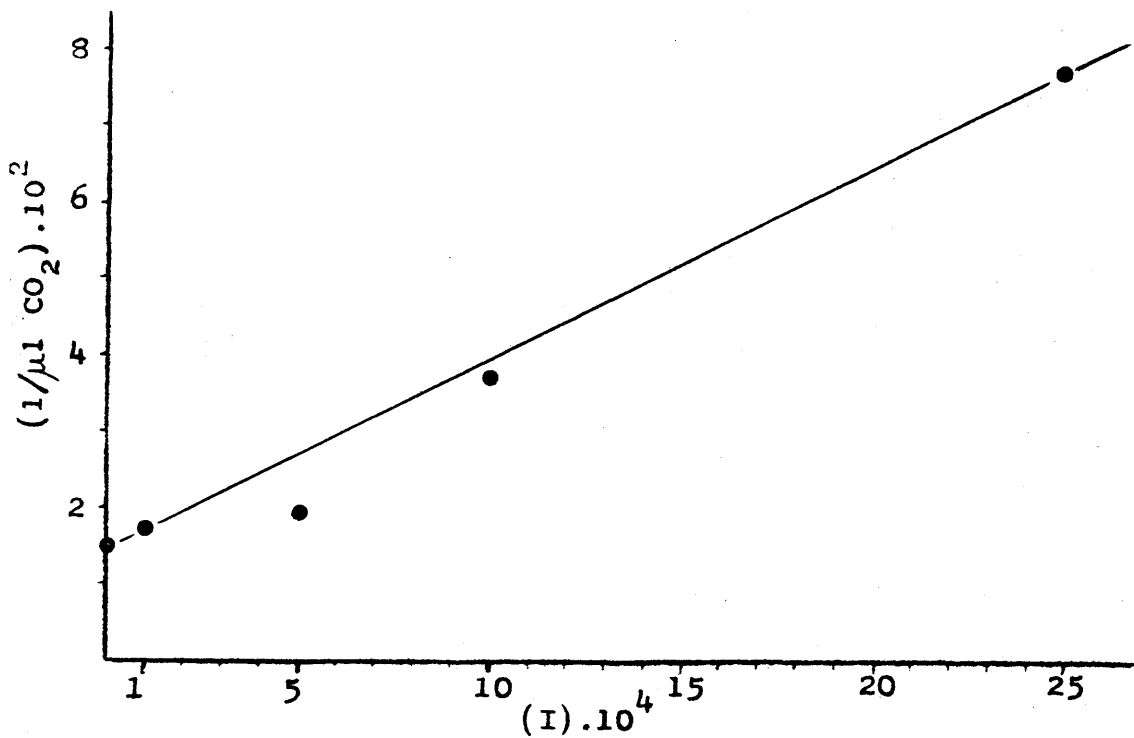
5.- Dependencia del grado de inhibición de la concentración del inhibidor

Para confirmar los resultados de la tabla 4 y analizar el comportamiento a concentración de inhibidor variable, se realizaron experiencias más detalladas con el compuesto 10. La disposición de los ensayos fué la misma indicada en el -

Tabla 5. Ensayos de inhibición de Dopa-descarboxilasa, con L-Dopa como sustrato, por el compuesto 10 a concentración variable.

(I)	$\mu\text{l CO}_2$	%Actividad	%Inhibición	1/%Actividad
0	66.2	100	0	$1.00 \cdot 10^{-2}$
$10^{-4}\text{M}$	57.7	89	11	$1.12 \cdot 10^{-2}$
$5 \cdot 10^{-4}\text{M}$	51.3	78	22	$1.29 \cdot 10^{-2}$
$10^{-3}\text{M}$	27.2	41	59	$2.43 \cdot 10^{-2}$
$2.5 \cdot 10^{-3}\text{M}$	12.9	20	80	$5.12 \cdot 10^{-2}$

Fig. 5. Diagrama de Dixon para la inhibición de la Dopa-descarboxilasa por el compuesto 10.



apartado 4, pero variando (I). Las experiencias se realizaron por duplicado. Los resultados se muestran en la tabla 5.

Como era de esperar, la inhibición crece con (I). Si los resultados de la tabla 5 se representan según un diagrama de Dixon (81), esto es,  $1/(\mu l CO_2)$  frente a (I), como muestra la fig. 5, se obtiene claramente una línea recta. Esto demuestra que la cinética de inhibición es de tipo michaeliano, pero desgraciadamente no se ha podido hacer un estudio del tipo de inhibición (competitiva, no competitiva o mixta) ni evaluar las constantes de inhibición, puesto que esto exige variar (S), empleando (S) no saturantes para la enzima, lo cual no nos lo permite la sensibilidad del método manométrico utilizado para las medidas. No obstante, queda aquí constancia del hecho, pendiente de un estudio cinético de detalle, a efectuar con un método más sensible de determinación de la enzima.

6.- Efecto de la concentración de piridoxal-5'-fosfato sobre el grado de inhibición de la descarboxilación de L-Dopa por Dopa descarboxilasa en presencia del compuesto 10

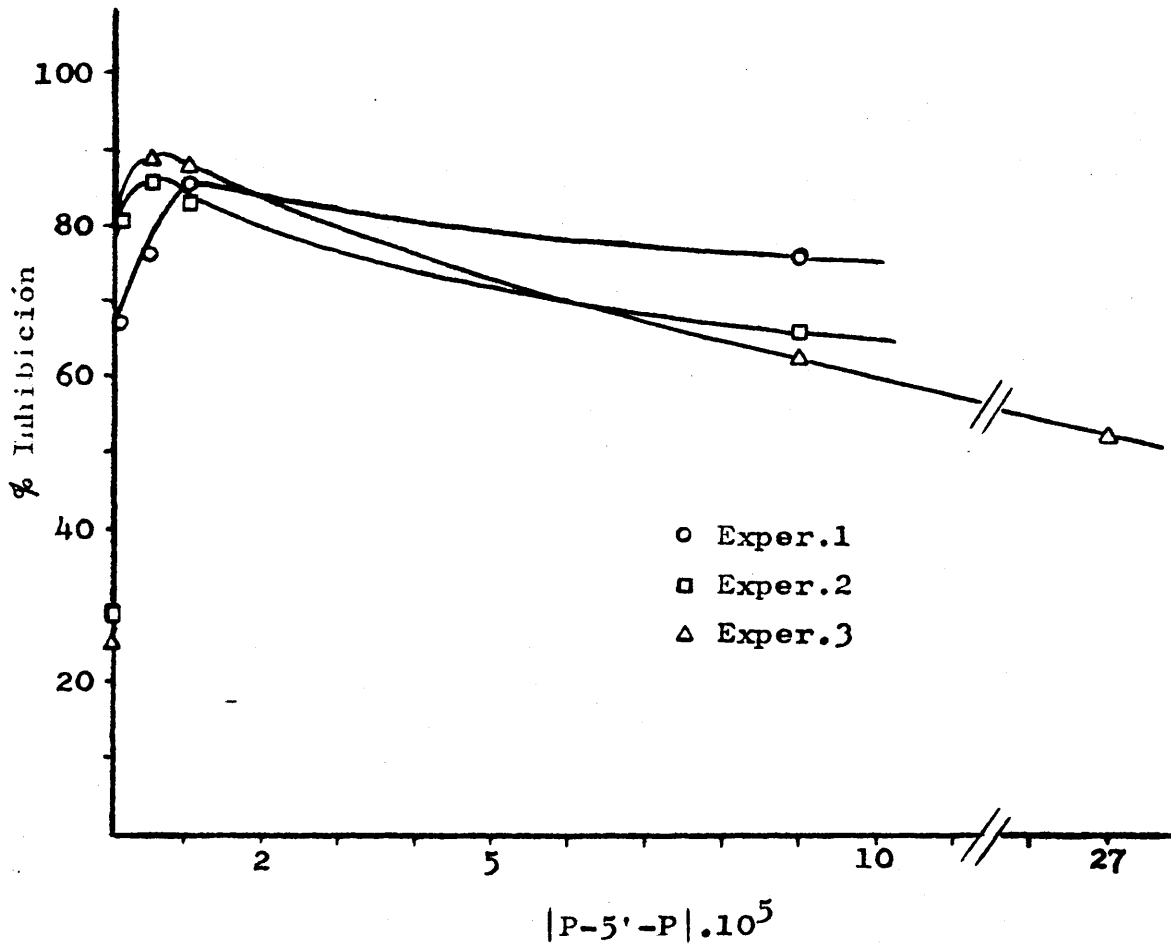
Puesto que la L-Dopa descarboxilasa usa piridoxal-5'-fosfato como coenzima, y este compuesto era uno de los componentes del medio de reacción, se estimó necesario estudiar la posible dependencia de la inhibición por el compuesto 10, como representativo de la serie en estudio, de la concentración de piridoxal-5'-fosfato, a fin de poder detectar cualquier posible causa de inhibición por reacción entre ambos.

Las condiciones generales de los ensayos fueron las detalladas en el apartado 4, con concentración de piridoxal-5'-fosfato variable,  $[Dopa] = [compuesto\ 10] = 2.5 \cdot 10^{-3} M$ . La tabla 6 resume los resultados de tres experiencias independientes de las medidas hechas en este sentido. Aunque hay ciertas diferencias cuantitativas entre las tres experiencias,

Tabla 6. Dependencia de la inhibición de Dopa-descarboxilasa por el compuesto 10, de la concentración de piridoxal-5'-fosfato.

	[P-5'-P]	$\mu\text{l CO}_2$ (I)=0	$\mu\text{l CO}_2$ (I)= $2.5 \cdot 10^{-3}$	%Inhibición
Experiencia 1.	$10^{-6}\text{M}$	23.2	7.5	67.0
	$5 \cdot 10^{-6}\text{M}$	47.6	11.2	76.4
	$10^{-5}\text{M}$	57.4	8.4	86.2
	$9 \cdot 10^{-5}\text{M}$	80.2	19.1	76.2
Experiencia 2.	0	21.5	13.1	39
	$10^{-6}\text{M}$	73.8	13.5	81
	$5 \cdot 10^{-6}\text{M}$	148.0	20.6	86
	$10^{-5}\text{M}$	170.0	29.2	83
	$9 \cdot 10^{-5}\text{M}$	105.0	36.1	66
Experiencia 3.	0	13.2	9.9	25
	$5 \cdot 10^{-6}\text{M}$	87.9	9.9	89
	$10^{-6}\text{M}$	94.0	12.3	87
	$9 \cdot 10^{-5}\text{M}$	65.1	24.0	63
	$27 \cdot 10^{-5}\text{M}$	48.8	23.2	53

**Fig. 6.** Dependencia de la inhibición de Dopa-descarboxilasa por el compuesto 10 de la concentración de piridoxal-5'-fosfato.



cuyas causas ignoramos, las tres experiencias arrojan unas mismas conclusiones generales. Los resultados de las tres experiencias se refieren a fechas diferentes, con cantidades de enzima diferentes y envejecimiento de ésta diferente, aunque no alcanzamos a explicar como estos factores pueden influir en los resultados.

Para su interpretación, los datos de la tabla 6, se han representado en la fig. 6. Tanto en la tabla como en la fig. 6 se observa claramente que el % de inhibición obtenido por el compuesto 10, varía con (P-5'-P). Para muy bajas concentraciones de (P-5'-P) (0 a  $10^{-6}$ M), la inhibición crece con la concentración para alcanzar un valor máximo a concentración de  $5 \cdot 10^{-6}$  a  $10^{-5}$ . Por último, altas concentraciones disminuyen el % de inhibición, o lo que es lo mismo, estabilizan el sistema frente a la inhibición por el compuesto 10.

#### 7.- Ensayos de inhibición de Dopa descarboxilasa por los productos de reacción del compuesto 10 con (P-5'-P)

Por reacción del compuesto 10 con piridoxal-5'-fosfato se han obtenido dos compuestos, una base de Schiff y un producto de ciclación, cuya preparación y caracterización se han descrito en las Partes II y III de esta Memoria. Aquí se describen los resultados de su ensayo como inhibidores de la Dopa descarboxilasa. Las experiencias se efectuaron como se detalló en el apartado 4.

Los resultados medios de una experiencia por duplicado se muestran en la tabla 7. Es evidente que ambos compuestos inhiben (76 y 66% respectivamente) y a la misma concentración ( $2.5 \cdot 10^{-3}$ M) en el mismo grado que lo hace el compuesto 10 (73%, tabla 4).

Por otra parte, en la tabla 8 se puede observar como la inhibición por la base de Schiff depende de la (P-5'-P), -

Tabla 7. Inhibición de Dopa-descarboxilasa por la Base de Schiff y por el producto de ciclación del compuesto 10 y P-5'-P.

Compuesto	$\mu\text{l CO}_2$ I=0	$\mu\text{l CO}_2$ I= $2.5 \cdot 10^{-3}\text{M}$	%Actividad	%Inhibición
P.Ciclación	127.2	43.6	34	66
Base Schiff	127.2	30.2	24	76

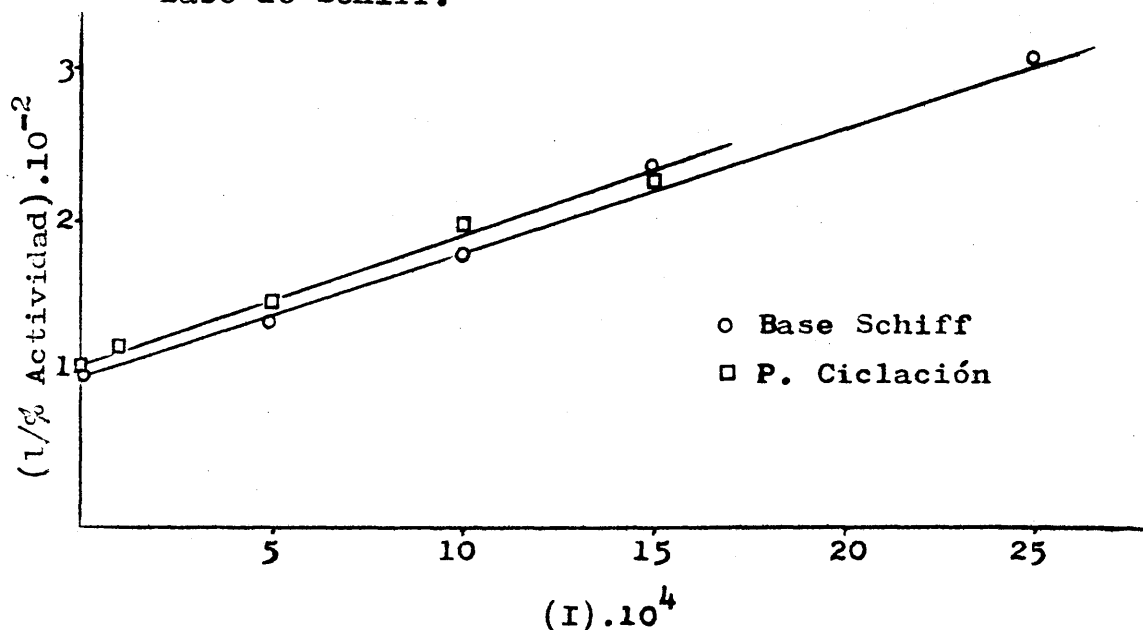
Tabla 8. Dependencia de la inhibición de Dopa-descarboxilasa por el P.Ciclación y Base de Schiff de la [P-5'-P].

	[P-5'-P]	$\mu\text{l CO}_2$	$\mu\text{l CO}_2$ I= $2.5 \cdot 10^{-3}\text{M}$	%Activ.	%Inhib.
P.Ciclación	$10^{-6}\text{M}$	41.1	18.9	46	54
	$9 \cdot 10^{-5}\text{M}$	85.0	35.1	41	59
Base Schiff	$10^{-6}\text{M}$	35.1	21.7	62	38
	$9 \cdot 10^{-5}\text{M}$	76.1	18.8	25	75

Tabla 9. Variación de la inhibición de Dopa-descarboxilasa con la concentración de inhibidor (Base Schiff y compuesto de ciclación).

	(I)	$\mu\text{l CO}_2$	%Activ.	%Inhib.	$1/\% \text{Activ.}$
P. Ciclación	0	84.4	100	0	$1.00 \cdot 10^{-2}$
	$10^{-4} \text{M}$	74.8	84	16	$1.20 \cdot 10^{-2}$
	$5 \cdot 10^{-4} \text{M}$	60.1	67	33	$1.49 \cdot 10^{-2}$
	$10^{-3} \text{M}$	45.5	51	49	$1.97 \cdot 10^{-2}$
	$1.5 \cdot 10^{-3} \text{M}$	38.1	44	56	$2.30 \cdot 10^{-2}$
Base Schiff	0	79.3	100	0	$1.00 \cdot 10^{-2}$
	$5 \cdot 10^{-4} \text{M}$	54.4	73	27	$1.37 \cdot 10^{-2}$
	$10^{-3} \text{M}$	44.5	56	44	$1.79 \cdot 10^{-2}$
	$1.5 \cdot 10^{-3} \text{M}$	33.8	43	57	$2.35 \cdot 10^{-2}$
	$2.5 \cdot 10^{-3} \text{M}$	26.2	33	67	$3.04 \cdot 10^{-2}$

Fig. 7. Diagramas de Dixon para la inhibición de Dopa-descarboxilasa por el compuesto de ciclación y por la Base de Schiff.



mientras que la inhibición por el producto de ciclación no depende. Estas observaciones permiten sugerir conclusiones que serán formuladas y discutidas posteriormente.

Asimismo, la inhibición por ambos compuestos es función de su concentración. Los resultados de estas experiencias, que se efectuaron como se describió en el apartado 4, pero a concentraciones de inhibidor variables, se detallan en la tabla 9. Cuando estos resultados se representan según diagramas de Dixon (81) en ambos casos se obtienen líneas rectas. Esto indica que en ambos casos la cinética de la inhibición es de tipo michaeliano (81). Desgraciadamente, las limitaciones del método de determinación de la enzima por vía manométrica no permitieron hacer experiencias a (S) variable, para poder deducir el tipo de cinética y evaluar las constantes de inhibición.

#### 8.- Carácter reversible o irreversible de la inhibición por el compuesto 10 (Tabla 2)

Aunque el carácter michaeliano de la inhibición por el compuesto 10, de la descarboxilación de L-Dopa por Dopa descarboxilasa, así como también por los compuestos de ciclación y base de Schiff (fig.7) apunta claramente a que la inhibición por todos estos compuestos es de carácter reversible, se realizó una experiencia para confirmar esto con el compuesto 10 (Tabla 2). Para ello, de dos soluciones de la enzima en tampón fosfato sódico M/15, pH=6.8, en presencia de piridoxal-5'-fosfato  $8 \cdot 10^{-5} M$ , se trató una de ellas con el compuesto 10 a  $2.5 \cdot 10^{-3} M$ . Después de 24 h a  $0-2^{\circ} C$ , ambas soluciones se dializaron exhaustivamente frente a tampón fosfato. Tomando como 100% la actividad de la enzima no tratada, la tratada con inhibidor dió 164% de actividad. En presencia del inhibidor la enzima sufrió aparentemente una reactivación.

Este hecho, aparentemente sorprendente, tiene una explicación sencilla. Aún a 0-2°C la enzima en solución es poco estable, como indicamos en el apartado 1, y la presencia del compuesto 10 la estabiliza frente a esta inactivación espontánea. Después, al eliminar el compuesto 10 por diálisis, la enzima tratada debe ser más activa que la no tratada. La inhibición por el compuesto 10 parece pues de carácter reversible y su presencia protege a la enzima de la inactivación espontánea en solución. Fenómenos de este tipo son muy corrientes entre las enzimas lábiles o poco estables, (81), cuya inactivación espontánea se contrarresta por la presencia de inhibidores reversibles o sustratos.

## DISCUSION DE RESULTADOS

En el apartado anterior hemos descrito los métodos y resultados obtenidos en el ensayo de ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos y de compuestos relacionados con sustratos y como inhibidores de la L-Dopa descarboxilasa.

La enzima, preparada según un método descrito (76), es bastante lábil en disolución y fue conservada en pequeñas fracciones congeladas alrededor de  $-10^{\circ}\text{C}$ . De este modo, en cada ocasión, se descongelaba y utilizaba inmediatamente, solo la cantidad aproximadamente necesaria en cada caso.

La actividad enzimática se determinó por el método manométrico. Este procedimiento, de fácil aplicación cuando la técnica se tiene a punto, como ocurría en nuestro laboratorio, es rápido y simple, aunque frecuentemente poco sensible y susceptible de errores inadvertidos, lo que obliga, al menos, a utilizar siempre experiencias por duplicado. Por otra parte, al menos bajo nuestras condiciones experimentales, no se presta a experiencias cinéticas a (S) variable, pues al pretender utilizar (S) no saturantes para la enzima, el método no es suficientemente preciso para tener medidas fiables. Pese a todo, la elección de este método, al menos para la obtención de una primera información general, que era lo deseado, resultaba prácticamente obligada.

Todas las experiencias se realizaron por duplicado, bajo condiciones en que la velocidad de la reacción era proporcional a la concentración de enzima e independiente de la concentración del sustrato (ver fig. 2), por lo cual podemos asegurar que siempre se midieron velocidades iniciales de reacción.

Se ha confirmado el hecho conocido (10) de que la L-Dopa descarboxilasa se activa por la adición al medio de reacción de un exceso de coenzima (piridoxal-5'-fosfato). En

nuestras experiencias la activación máxima se alcanza a concentraciones de coenzima de  $2 \cdot 10^{-5} M$ , y la velocidad de la reacción aproximadamente se duplica. Para concentraciones entre  $2 \cdot 10^{-5}$  a  $2.7 \cdot 10^{-4} M$ , la activación se mantuvo constante (fig. 3). En algunas experiencias se mostró inhibición por concentraciones más altas, de acuerdo con lo descrito por otros autores (10). Para adiciones de piridoxal-5'-fosfato entre 0 y  $2 \cdot 10^{-5} M$  la activación sigue una cinética michaeliana (fig. 4), y los diagramas que se obtienen al representar  $1/(\mu l CO_2)$  frente a  $1/(P-5'-P)$  son lineales.

Como posibles sustratos de la enzima, se ensayaron 12 compuestos referibles a ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos. Comparados con el L-Dopa, ninguno de estos compuestos mostró una actividad clara como sustrato (tabla 2), pues las actividades medidas caen dentro de los errores experimentales. Experiencias a muy largo tiempo con uno de los compuestos (tabla 3) también descartaron su comportamiento como posible sustrato. No obstante, esto no excluye la posibilidad de que todos o alguno de los compuestos sirva como muy mal sustrato y que el método utilizado no permita detectar esta actividad.

Los ensayos de los ciclopropilaminoácidos como posibles inhibidores de la descarboxilasa del L-Dopa por Dopa descarboxilasa muestran actividad en este sentido, al menos con los compuestos 7 y 9-12 (tabla 4). En los demás casos, los resultados obtenidos caen dentro del error experimental y solo puede apreciarse o que los compuestos no inhiben, o su actividad como tales es muy pequeña. Estos resultados, por lo que se refiere a las relaciones estructura actividad, son lógicos, ya que los compuestos más inhibidores son los que tienen grupos 3-OH fenilo o 4-OH fenilo, lo cual se corresponde con la especificidad de la enzima. Por otra parte, los resultados son similares a los obtenidos por Sourkes -

(82) en los estudios sobre inhibición de esta enzima procedente de hígado de cerdo por una serie de derivados de  $\alpha$ -metilfenilalanina. Así, mientras la  $\alpha$ -metil-3-hidroxifenilalanina inhibía 95%, bajo las mismas condiciones la  $\alpha$ -metil-3-metoxifenilalanina solo lo hacía 17%.

Un examen más detallado de la inhibición por el compuesto 10 (ácido 1-amino-2-(3-hidroxifenil)-ciclopropanocarboxílico) mostró que la cinética de la inhibición a concentración variable de este compuesto es de tipo michaeliano (81) (tabla 5 y fig. 5), pues los diagramas de Dixon obtenidos al representar  $1/( \mu\text{l CO}_2 )$  frente a (I) son lineales. Con un método de ensayo enzimático más sensible sería posible determinar las constantes de inhibición  $K_i$  y diagnosticar el tipo de inhibición. Esto forma parte de los proyectos de trabajo futuro.

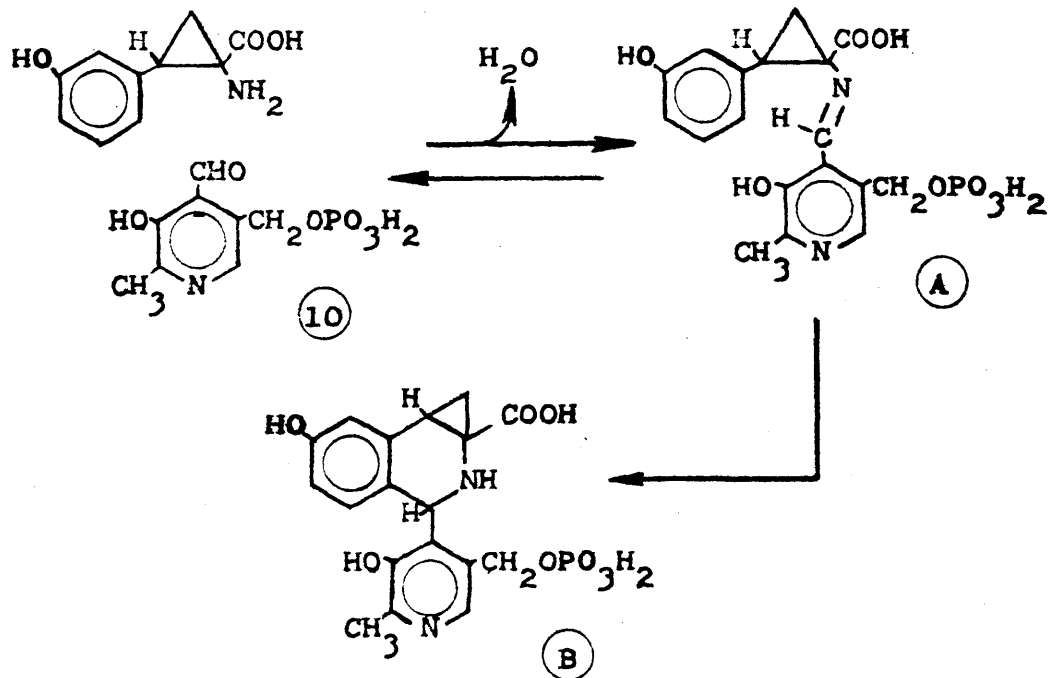
Los resultados mostrados en la tabla 6 y en la fig. 6 indican que la inhibición por el compuesto 10 de la descarboxilación enzimática del L-Dopa es dependiente de la concentración de piridoxal-5'-fosfato. Para adiciones de coenzima de  $0-2 \cdot 10^{-5} \text{M}$ , la inhibición aumenta con la concentración. Para concentraciones más altas hay una caída progresiva de la inhibición. Es decir, el piridoxal-5'-fosfato, a bajas concentraciones potencia la inhibición y a altas concentraciones tiende a contrarrestar aquél efecto.

En cualquier caso, la inhibición por el compuesto 10 parece ser de carácter reversible. A su vez, el compuesto es capaz de estabilizar a la enzima en solución, protegiéndola de su inactivación espontánea (ver apartado 8, pg.233 )

La interpretación de estos resultados es difícil, al menos mientras no dispongamos de más información de tipo cinético y mecanístico, a obtener en el futuro mediante el empleo de un método más sensible para la determinación de la enzima. No obstante, son posibles algunas conjeturas preliminares.

Como es sabido, la enzima contiene piridoxal-5'-fosfato unido covalentemente como base de Schiff y a su vez se activa por la adición extra de coenzima. Dicho de otra manera, la enzima utiliza coenzima unida en forma covalente y coenzima dializable (3) (19) y las funciones específicas de cada una de estas partes de coenzima, en particular de la dializable, no están claras.

En principio cabe esperar que la inhibición por el compuesto 10 y algunos otros de los ciclopropilaminoácidos estudiados sea debida a interacción con la proteína misma, a interacción con el piridoxal-5'-fosfato unido en forma covalente o con el dializable o libre en el medio. Si la interacción fuese simplemente sobre la proteína, no debiera depender la inhibición de la adición o no de piridoxal-5'-fosfato. Parece más lógico pensar en una interacción con éste, en cualquiera de sus formas. La distinción entre estas alternativas es difícil.



Una aproximación a los hechos puede obtenerse estudiando independientemente la reacción del compuesto 10 con fosfato de 5'-piridoxal y examinando si los compuestos formados son inhibidores. Como se describió en la Parte II de esta Memoria, la reacción entre piridoxal-5'-fosfato y el compuesto 10 permitió obtener y caracterizar los compuestos A y B.

Los ensayos de inhibición con estos compuestos A y B, mostraron que ambos inhiben en grado comparable al compuesto 10 a concentraciones todos ellos de  $2.5 \cdot 10^{-3} M$ , y que la inhibición sigue una cinética michaeliana (tablas 4 y 7, y fig. 10), pero además que la inhibición por A (tabla 8), lo mismo que ocurre con 10 (tabla 6 y fig. 6), depende de la concentración de piridoxal-5'-fosfato, pero no la inhibición por B (tabla 8). Así pues, aparentemente, la inhibición por 10 parecería explicarse suponiendo su conversión en el medio de reacción a A o a A+B o a B. Pero esta explicación no es satisfactoria, pues 10, a  $2.5 \cdot 10^{-3} M$  y P-5'-P= $8 \cdot 10^{-5} M$ , inhibe 76%, es decir, prácticamente lo mismo que A o B a  $2.5 \cdot 10^{-3} M$  (tablas 4 y 7). Evidentemente, desde el punto de vista cuantitativo la hipótesis de formación de A y B en el medio de reacción no explica la inhibición por el compuesto 10, aunque A y B sean a su vez inhibidores.

Con los datos disponibles y sobre la base del método manométrico de ensayo de la enzima no es fácil obtener más información y no es posible dar una explicación concluyente sobre los resultados y sobre el mecanismo de inhibición de la actividad enzimática por 10, por A y por B. No obstante, los hechos apuntan a un mecanismo de inhibición más complejo, en el que posiblemente hay reacción del compuesto 10 con el fosfato de piridoxal libre, con formación de compuestos A y B inhibidores y también con la coenzima unida en forma covalente, mimetizando el inhibidor al sustrato, para dar un complejo enzima-base de Schiff del inhibidor, similar al

producido por el sustrato y que no puede, por razones desconocidas sufrir descarboxilación o ésta es muy lenta.

Con miras a resolver estas indeterminaciones tenemos ahora el proyecto de iniciar un estudio cinético detallado del mecanismo de inhibición de la enzima por  $\alpha$ -metil-Dopa, por los compuestos 7 y 9-12, así como por los productos de reacción que puedan obtenerse entre estos aminoácidos con piridoxal y con piridoxal-5'-fosfato. Para ello nos proponemos utilizar un método muy sensible y preciso de determinación de la enzima basado en el empleo de sustratos marcados con  $C^{14}$  en el grupo -COOH (ver pg. 208).

## CONCLUSIONES

El trabajo experimental que se describe en esta Memoria como Tesis Doctoral fué llevado a cabo con el fin de desarrollar un método adecuado para la síntesis de ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos, preparar una serie de estos compuestos y estudiar su acción sobre la descarboxilasa de aminoácidos aromáticos (Dopa descarboxilasa).

De acuerdo con los mecanismos admitidos para la descarboxilación enzimática de la L-3,4-dihidroxifenilalanina - (L-Dopa) a 3,4-dihidroxifeniletilamina (Dopamina), y por analogía estructural con la  $\alpha$ -metil-3,4-dihidroxifenilalanina, los mencionados ácidos aminofenilciclopropanocarboxílicos - pueden comportarse como inhibidores de la Dopa descarboxilasa, y en consecuencia son de interés potencial como inhibidores de la biosíntesis de catecolaminas y de serotonina. Por otra parte, si como ocurre con la  $\alpha$ -metil-3,4-dihidroxifenilalanina, sirven de sustratos a la enzima, su descarboxilación daría 2-aril-ciclopropilaminas, un grupo bien conocido de inhibidores de monoaminooxidasa, de uso clínico como antidepresivos.

En consecuencia y contando con la experiencia previa en esta línea, se abordó la síntesis de ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos por un camino inédito, a través del uso de 4-arilidéntiazolonas.

Las CONCLUSIONES del trabajo realizado, que ha permitido alcanzar con éxito los objetivos propuestos, son las siguientes:

1ª.- A partir de O-bencilxantato de metilo y de glicina se detalla la preparación de N-(benciloxi)tiocarbonilglicina y de N-(bencilto)carbonilglicina, que se describen por primera vez. La obtención de uno u otro producto depende de las

condiciones de la reacción y es consecuencia de la fácil con versión del O-bencilxantato de metilo en S-bencilxantato de - metilo por una transposición O→S del grupo bencilo.

Asímismo, a partir de glicina, sulfuro de carbono y clo- ruro de bencilo, se obtiene N-bencilditioicarbonilglicina, ya - conocida.

2ª.- Por condensación, en presencia de anhídrido acético-ace- tato sódico o anhídrido acético-carbonato potásico, de N-(ben- ciloxi)tiocarbonilglicina con una serie de 11 aldehídos aro- máticos, se obtiene con rendimientos de 40-75% una serie de 2-benciloxi-4-arilidén-5(4H)-tiazolonas, todas ellas nuevas, donde los radicales arilideno han sido: bencilideno; 4-meto- xibencilideno; 4-nitrobencilideno; 4-metilbencilideno; 4-clo- robencilideno; 4-acetoxibencilideno; 3-acetoxibencilideno; - 3,4-dimetoxibencilideno; 4-benciloxibencilideno; 3-(N-acetil indolil)-metileno y 4-piridín-metileno.

3ª.- Por condensación, bajo las mismas condiciones indicadas en la conclusión anterior, de N-bencilditioicarbonilglicina - con una serie de 18 aldehídos aromáticos, se obtiene con ren- dimientos de 40-75% una serie de 2-benciltío-4-arilidén-5(4H) tiazolonas, todas ellas nuevas, donde los radicales arilide- no han sido: bencilideno; 4-metoxibencilideno; 4-nitrobenci- lideno; 4-metilbencilideno; 4-clorobencilideno; 3-clorobenci- lideno; 4-fluorobencilideno; 3,4-metiléndioxibencilideno; 4- -acetoxibencilideno; 4-hidroxibencilideno; 3-acetoxibencili- deno; 3-acetoxi-4-metoxibencilideno; 3-metoxi-4-acetoxibenci- lideno; 3,4-diacetoxibencilideno; 3-metoxibencilideno; 4-ben- ciloxibencilideno; 4-dimetilaminobencilideno y 3-(N-acetil in- dolil)-metileno.

4ª.- Los intentos de extender las reacciones de condensación mencionadas en las conclusiones 2ª y 3ª a compuestos carboní- licos alifáticos (acetona, isobutiraldehído) no dieron resul- tado y solo condujeron a mezclas de productos no identifica- dos.

5ª.- Los intentos de condensar aldehídos aromáticos con N-(benciltío)carbonilglicina, para obtener 2-benciltío-4-arilidén-5(4H)-oxazolonas, por una reacción paralela a la mencionada en las conclusiones 2ª y 3ª, no dieron resultado. Así, la reacción con 4-hidroxibenzaldehído condujo a 2-metil-4-(4-acetoxifenil)-5(4H)-oxazolona. Este resultado creemos que es consecuencia de la conversión de la N-(benciltío)carbonilglicina a N-acetilglicina por el anhídrido acético.

6ª.- Por reacción de las 2-benciloxi-4-arilidén-5(4H)-tiazolonas, descritas en la conclusión 2ª, con diazometano, en benceno a 40-50°C, se obtiene con rendimientos de 25-50% una serie de 1-aril-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas que en lo sucesivo denominamos espirobenciloxitiazolonas y que se describen por primera vez. Los radicales arilo son: fenilo; 4-metoxifenilo; 4-nitrofenilo; 4-clorofenilo; 4-acetoxifenilo y 3-acetoxifenilo.

De la reacción del 4-benciloxibencilidén-derivado con diazometano, además de la correspondiente espirobenciloxitiazolona, se aisló otro producto también nuevo, correspondiente a la reacción con 3 moles de diazometano y que se identificó como 5-(4-benciloxifenil)-7-benciloxi-11-oxa-8-tia-2,3,6-triaza-espiro-(4,4,2,0)dodeca-2,6-dieno.

7ª.- Por reacción de las 2-benciltío-4-arilidén-5(4H)-tiazolonas, descritas en la conclusión 3ª, con diazometano, en benceno a 40-50°C, se obtiene con rendimientos de 30-55% una serie de 1-aril-5-benciltío-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)hept-4-en-7-onas, que en lo sucesivo denominamos espirobenciltiótiazolonas y que se describen por primera vez. Los radicales arilo son: fenilo; 4-metoxifenilo; 3-metoxifenilo; 4-nitrofenilo; 4-metilfenilo; 4-clorofenilo; 3-clorofenilo; 4-fluorofenilo; 3,4-metilendioxi fenilo; 4-acetoxifenilo; 3-acetoxifenilo; 3,4-diacetoxifenilo; 3-metoxi-4-acetoxifenilo; 3-acetoxi-4-metoxifenilo y 4-benciloxifenilo.

De la reacción con el 4-dimetilaminobencilidén-derivado no se aisló la esperada espirobenciltio-tiazolona, sino otro producto (75%) nuevo, que se identificó como 2-benciltio-4-(4-dimetilaminofenil-1-etilidén)-5(4H)-tiazolona.

8ª.— Con el fin de tener la máxima información sobre el curso y mecanismo de las reacciones comentadas en las conclusiones 6ª y 7ª se hizo un estudio minucioso de todos los productos aislables de la reacción entre 2-benciloxi-4-bencilidén-5(4H)-tiazolona y diazometano, en benceno a 40-50°C. Se aislaron y caracterizaron los siguientes compuestos, todos ellos nuevos: 2-benciloxi-4-(1-feniletalidén)-5-(4H)-tiazolona; la correspondiente espirobenciloxitiazolona ya citada en la conclusión 6ª; (E)-1-fenil-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,4)-hept-4-en-7-ona; 2-fenil-5-benciloxi-6-tio-4-aza-espiro-(2,5)-oct-4-en-8-ona; 5-fenil-7-benciloxi-11-oxa-8-tia-2,3,6-triaz-a-diespiro(4,4,2,0)dodeca-2,6-dieno.

9ª.— Por hidrólisis básica parcial del fenilderivado correspondiente a las espirobenciloxitiazolonas, descritas en la conclusión 6ª, se obtuvo una posible mezcla de los dos tioácidos posibles y no conocidos por simple apertura hidrolítica del anillo de tiazolona. Ambos compuestos no pudieron separarse, pero desulfurada la mezcla con óxido de plata se obtiene el ácido 1-benciloxicarbonilamino-2-fenil-ciclopropano carboxílico como único producto, que no era conocido.

De modo análogo, la metanolisis básica de la citada tiazolona, condujo a una posible mezcla de los dos ésteres metílicos, no conocidos, de los dos tioácidos antes mencionados, que tampoco pudieron separarse. No obstante, la supuesta mezcla, desulfurada con óxido de plata, condujo como único producto al 1-benciloxicarbonilamino-2-fenilciclopropanocarboxilato de metilo, que no era conocido.

10ª.- Las espirobenciltiotiazolonas, descritas en la conclusión 7ª, son mucho más fácilmente hidrolizables que las espirobenciloxitiazolonas, descritas en la conclusión 6ª. Por hidrólisis con potasa alcohólica de las espirobenciltiotiazolonas, a 40-50°C, o de las espirobenciloxitiazolonas a reflujo durante 1 hora, o por ambos métodos, se obtiene con rendimientos de 25-75% una serie de ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos nuevos, en los que el resto arilo ha sido: fenilo; 4-metoxifenilo; 3-metoxifenilo; 4-metilfenilo; 4-clorofenilo; 4-fluorofenilo; 3-clorofenilo; 3,4-metiléndioxifenilo; 4-hidroxifenilo; 3-hidroxifenilo; 3-hidroxi-4-metoxifenilo; 3-metoxi-4-hidroxifenilo.

Estos métodos en general fallaron, conduciendo solo a resinas intratables, al aplicarlos a la obtención de hidroxiaril-derivados por hidrólisis de los acetoxiaril-derivados correspondientes.

11ª.- Aún bajo las condiciones más enérgicas citadas en la conclusión 10ª para las espirobenciloxitiazolonas, la hidrólisis del 4-benciloxifenil-derivado correspondiente a las espirobenciloxitiazolonas de la conclusión 7ª, solo transcurrió de modo parcial, abriéndose únicamente el anillo de oxazolona a la mezcla de los dos tioácidos correspondientes y no conocidos. Esta mezcla que no pudo separarse, por desulfuración con óxido de plata condujo a un solo producto nuevo, identificado como ácido 1-benciloxicarbonilamino-2-(4-benciloxifenil)-ciclopropanocarboxílico.

12ª.- Por hidrólisis con potasa en etanol-agua o dixano-agua, a temperatura ambiente y bajo corriente de nitrógeno, de los correspondientes acetoxifenil-derivados de las espirobenciltiotiazolonas, descritas en la conclusión 7ª, se consiguió la obtención y aislamiento en forma de hidrocloruros de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxilílicos siguientes, en los que el resto arilo es: 4-hidroxifenilo (35-64%); 3-hi

droxifenilo (15-40%); 3-metoxi-4-hidroxifenilo (22-40%); 3-hidroxifenilo (25%). Todos ellos se describen por primera vez.

13ª.- En la hidrólisis del 3-acetoxifenil-derivado de la espirobenciltiótiazolona, como se indica en la conclusión 12ª, además del correspondiente ciclopropilaminoácido, se obtuvo un nuevo producto (25%), procedente de la ciclación intramolecular de intermediarios de la reacción y que se identificó como ácido 1-tiocarbonil-3,4-metilén-6-hidroxitetrahidroisoquinoleína-3-carboxílico.

Asimismo, en la hidrólisis del 3-acetoxi-4-metoxifenil-derivado, además del correspondiente ciclopropilaminoácido descrito en la conclusión 12ª, se obtuvo un nuevo producto (30%) identificado como ácido 1-tiocarbonil-3,4-metilén-6-hidroxi-7-metoxitetrahidroisoquinoleína-3-carboxílico.

14ª.- La hidrólisis con tampón ácido bórico/NaOH de pH=12 y etanol del fenil-derivado correspondiente a las espirobenciltiótiazolonas condujo a una posible mezcla de los ésteres etílicos de los ácidos 1-benciltiocarbonilamino-2-fenilciclopropanocarboniltiólico y 1-bencilditíocarbonilamino-2-fenilciclopropanocarboxílico. Por el contrario, la hidrólisis con el mismo tampón y dioxano condujo al ácido 1-amino-2-fenilciclopropanocarboxílico, ya descrito en la conclusión 12ª.

La aplicación de estos métodos al 3,4-diacetoxifenil-derivado solo condujo a resinas intratables.

15ª.- Por tratamiento con etanol/HCl de los ácidos 1-amino-2-aryl-ciclopropanocarboxílicos (arilo= fenilo, 3-metoxifenilo, 4-metoxifenilo, 4-metilfenilo, 4-clorofenilo, 3-clorofenilo, 4-fluorofenilo y 3,4-metiléndioxifenilo) se obtienen los hidrocloruros de los aminoácidos correspondientes. No pudo obtenerse el correspondiente al 4-benciloxifenil-derivado.

16ª.- Por hidrólisis con ClH-2N del fenil-derivado correspondiente a las espirobenciloxitiazolonas, descrito en la conclusión 6ª, se obtuvo el hidrocioruro de la 2-amino-4-fenil- $\gamma$ -butirolactona, ya conocido, y formado por ruptura C<sub>1</sub>-C<sub>2</sub> del anillo de ciclopropano, en vez del hidrocioruro del ácido 1-amino-2-fenil-ciclopropanocarboxílico. Sin embargo, este aminoácido soporta la ebullición con ácido clorhídrico al 50% y con BrH/AcOH al 40%. En este último tratamiento se obtuvo el hidrocioruro del aminoácido.

17ª.- Por tratamiento con BrH/AcOH de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos, correspondientes a arilo= 4-metoxifenilo, 3,4-metiléndioxifenilo y 3-metoxifenilo, se obtuvieron, en el primer caso el hidrobromuro de la 2-amino-4-(4-hidroxifenil)- $\gamma$ -butirolactona, en el caso segundo el hidrobromuro de la 2-amino-4-(3,4-metiléndioxifenil)- $\gamma$ -butirolactona, y en el tercer caso el hidrobromuro del ácido 1-amino-2-(3-hidroxifenil)-ciclopropanocarboxílico.

Asímismo, por tratamiento de los mismos aminoácidos con tribromuro de boro se obtuvo, en el primer caso el hidrobromuro de la 2-amino-4-(4-hidroxifenil)- $\gamma$ -butirolactona, en el segundo caso un residuo no identificable y en el tercer caso el hidrobromuro de la 2-amino-4-(3-hidroxifenil)- $\gamma$ -butirolactona.

18ª.- Por reacción de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos correspondientes a arilo= fenilo y 4-metoxifenilo con cloruro de benzoílo primero y diazometano después se obtuvieron los correspondientes 1-benzamido-2-aril-ciclopropanocarboxilatos de metilo, con configuración inequívoca Z(trans CO-arilo) e identificados por comparación con muestras auténticas.

19ª.- Por reacción del ácido 1-amino-2-(3-hidroxifenil)-ciclopropanocarboxílico con la sal disódica del fosfato de 5'-piridoxal se han obtenido la correspondiente base de -

Schiff y el producto de ciclación de ésta a derivado de tetrahydroisoquinoleína, cuyas estructuras se discuten.

20ª.- Todos los productos que se describen, y siempre que fué necesario y posible, se han caracterizado a través de análisis elemental, espectroscopías IR y RMN y excepcionalmente espectrometría de masas. Se tabulan los resultados y se discuten las estructuras.

21ª.- Se discute la estereoquímica de los productos obtenidos que la presentan. Por generalización de los resultados comentados en la conclusión 18ª, hay bases razonables para concluir tentativamente que todos los ciclopropilaminoácidos obtenidos tienen la configuración Z (trans CO-arilo). Asimismo se aportan datos que indican tentativamente que los arilidén-derivados a que hacen referencia las conclusiones 2ª y 3ª tienen configuración Z y que su reacción con diazometano, según las conclusiones 6ª, 7ª y 8ª transcurre de modo estereoselectivo con retención de la configuración.

22ª.- Se pone a punto el método manométrico para la determinación de Dopa descarboxilasa con una preparación enzimática de riñón de cerdo. Se ensayan como posibles sustratos 12 hidroclocloruros de los ácidos 1-amino-2-aril-ciclopropanocarboxílicos a concentración  $2.5 \cdot 10^{-3} M$ . Comparados con el L-Dopa como 100%, ninguno de los compuestos presentó una actividad como sustrato  $\geq 6\%$ , lo cual cae dentro de los límites de error experimental del método, y sugiere que no son descarboxilados o lo son muy débilmente. Experiencias con largo tiempo de reacción apoyan la conclusión de que no sirven como sustratos.

23ª.- Los 12 compuestos referidos en la conclusión 22ª se ensayaron como inhibidores de la descarboxilación enzimática del L-Dopa. A concentración  $2.5 \cdot 10^{-3} M$  solo mostraron inhibición los compuestos en los que arilo es 4-fluorofenilo

(18%), 3-hidroxifenilo, 4-hidroxifenilo, 3-hidroxi-4-metoxifenilo, y 4-hidroxi-3-metoxifenilo (73-86%).

Experiencias sobre el posible mecanismo de esta inhibición sugieren un proceso reversible complejo a través de la base de Schiff con fosfato de 5'-piridoxal y de su producto tetrahidroisoquinoleínico de ciclación.

BIBLIOGRAFIA

- (1). T.L. Sourkes, Pharmacological Rev., 18, 53-59 (1966)
- (2). D. Aures, R. Håkanson, W.G. Clark, "Histidine descarboxilase and Dopa descarboxilase" en "Handbook of - Neurochemistry" Vol. 4, pp 165-196 (1971). Ed. A. - Lajtha.
- (3). A.J. Awapara, R.P. Sandman, C. Hanly, Arch. Biochem. Biophys., 98, 520 (1962)
- (4). D.E. Metzler, N. Ikawa, E.E. Snell, J. Am. Chem. Soc., 76, 648 (1954).
- (5). S. Mandeles, R. Koppelman, M.E. Hake, J. Biol. Chem., 209, 327 (1954)
- (6). E.H. Fischer, A.B. Kent, E.R. Snyder, E.G. Krebs, J. Am. Chem. Soc., 80, 2906 (1958)
- (7). E.E. Snell, Vitam. Horm., 16, 77-125 (1958)
- (8). W. Lovenberg, H. Weissbach, S. Udenfriend, J. Biol. - Chem., 237, 89 (1961)
- (9). J.H. Fellman, Enzimología, 20, 366-376 (1959)
- (10). M. Corgier, H. Pacheco, Biochimie, 57, 1016 (1975)
- (11). T.L. Sourkes, H.R. Rodriguez, Med. Chem. 7, 151-89 (1967)
- (12). T.L. Sourkes, Brit. Med. Bull., 21, 66 (1965)
- (13). J.G. Cannon, J.P. O'Donnell, J.P. Rosazza, C.R. Hoppin, J. Med. Chem., 17, 565 (1974)
- (14). M. Atkinson, D. Hartley, L.H.C. Lunts, A.C. Ritchie, J. Med. Chem., 17, 249 (1974)
- (15). M. Winn, R. Rasmussen, F. Minard, J. Kyncl, N. Plotnikoff, J. Med. Chem., 18, 435 (1975)

- (16). K.S. Marshall, N. Castagnoli Jr., J. Med. Chem., 16, 267 (1973)
- (17). C.C. Porter, Adv. Neurology, 2, 54 (1973)
- (18). C.B. Voltattorni, A. Minelli, C. Turano, FEBS Letters, 17, 231-235 (1971)
- (19). W. Lovenberg, J. Barchas, H. Weissbach, S. Udenfriend, Arch. Biochem. Biophys., 103, 9-14 (1963)
- (20). A. Pages, A. Burger, J. Med. Pharm. Chem., 2, 766, - (1966)
- (21). A. Pages, A. Burger, J. Med. Chem., 10, 435 (1967)
- (22). C. Kaiser, C.L. Zirkle, Belg. patent. 648020 (1964); C.A. 63, 14979b (1965)
- (23). J. Frülkelstein, J. Med. Chem., 8, 432 (1965).
- (24). R.E. Tedeschi, D.H. Ames, P.L. Cook, L. Mattis, P.A. Fellows, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med., 102, 380-1 (1959)
- (25). A.R. Maass, M.J. Nimmo, Nature, 184, 547 (1959)
- (26). C. Ingold, S. Sako, J. Field-Thorpe, J. Chem. Soc., 121, 1177 (1922)
- (27). L.F. Burroughs, Nature, 179, 360 (1957)
- (28). M.L. Vahatulo, A.I. Virtanen, Acta. Chem. Scand., 11, 741 (1957)
- (29). A.W. Dox, L. Yoder, J. Am. Chem. Soc., 43, 2097 (1921)
- (30). W.H. Perkin, J. Chem. Soc., 47, 810 (1885)
- (31). T.A. Connors, W.C.J. Ross, J. Chem. Soc., 2119 (1960)
- (32). W.I. Awad, A.R. Fateen, M.A. Zayed, Tetrahedron, 20, 891 (1964).

- (33). A. Mustafa, W. Asker, A.H. Harhash, A.M. Fleifel, -  
Tetrahedron, 21, 2215 (1965)
- (34). H.T. Clark, J.R. Johnson, R. Robinson, en "The Chemis-  
try of Penicillin", Ed. Princenton Univ., N.Y., pg. -  
736 (1949)
- (35). U. Schöllkopf, R. Harms, D. Hoppe, Justus Liebigs -  
Annalen der Chemie, 4, 611-618 (1973)
- (36). M. Bernabé, E. Fernández Alvarez, S. Penadés, Anales  
de Química, 68, 501-522 (1972)
- (37). M. Bernabé, E. Fernández Alvarez, S. Penadés, Anales  
de Química, 68, 1005-1015 (1972)
- (38). M. Bernabé, O. Cuevas, E. Fernández Alvarez, S. Pena-  
dés, E, Rubio Rev. Real Acad. Cienc. Exactas, Fis. -  
Natur. Madrid, 69, 435-456 (1975)
- (39). R. Hernández, "Preparación del ácido 1-amino-2-aril-  
ciclopropanocarboxílico a partir de tiohidantoína". -  
Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias de la Uni-  
versidad Complutense de Madrid (1975)
- (40). M. Bernabé, E. Fernández Alvarez, S. Penadés, "Sinte-  
sis de ácidos  $\alpha$ -aminociclopropanocarboxílicos". XVI  
Reunión Bienal de la Real Soc. Esp. Fis. Quim. Oviedo  
(1973). Resumen Comunicación pg. 133
- (41). E. Erlenmeyer, Ann., 275, 1 (1893)
- (42). J. Plösch, Ber., 16, 2815 (1885)
- (43). A.H. Cook, G. Harris, I. Heilbron, G. Shaw, J. Chem.  
Soc., 2, 1056 (1948)
- (44). "The Chemistry of the thiol group" pg 201 Vo I, pg 698  
Vol II (1974). Ed. Paul Patai Interscience.
- (45). G. Bulner, F. Mann, J. Chem. Soc., 2, 666-671 (1945)

- (46). F.L. Pyman, J. Chem. Soc., 109, 186 (1916)
- (47). C.D. Hurd, K.L. Kreuz, J. Am. Chem. Soc., 72, 5543 - (1950)
- (48). L.J. Belamy. "The infrared spectra of Complex Molecules" J. Wiley and Sons. Inc. New York (1964) pg 270; y bibliografía allí citada
- (49). A.P. Morgenstern, C. Schuti y W.Th. Nauta, Chem. Comm., 321 (1969-D)
- (50). K. Brocklehurst and K. Williamson, Tetrahedron, 30, - 351-364 (1973)
- (51). I. Arenal "Estudio configuracional en espirooxazolonas. Síntesis y estudio RMN de 1-benzoilamino-2-aril-ciclopropanocarboxilatos de metilo cis y trans". Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias de la Universidad Complutense de Madrid (1976)
- (52). H.E. Simmons, R.D. Smith, J. Am. Chem. Soc., 80, 5323 (1958)
- (53). E.J. Corey, M. Chaykovsky, J. Am. Chem. Soc., 84, 867 (1962); 87, 1353 (1965)
- (54). E. Buchner, Ber., 21, 2637 (1888)
- (55). R. Huisgen, R. Grashey, J. Sauer, "Cycloaddition reactions of alkenes", Ed. S. Patai, pp 739-953 (1964)
- (56). L.J. Jackman, S. Sternhel, "Applications of Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy in Organic Chemistry" Ed. Pergamon Press (1972) pp 276, 286
- (57). M.L. Izquierdo. "Inhibidores potenciales de descarboxilasas. Sobre la preparación de 3-arilcisteínas y 4-aril-homocisteínas". Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias de la Universidad Complutense de Madrid - (1976)

- (57a) J.F.W. Mc Omie. "Protective groups in organic chemistry" Vol 3, 191-294 y 145-177 (1963)
- (58). C.H. Puy "Three-Membered Rings" Ed. Board pg. 73 (1973)
- (59). Mc. Kinney, S.H. Smith, Tetrahedron Letters, 6, 3657 (1971)
- (60). P. Fasella, Annu. Rev. Biochem., 36, 194 (1967)
- (61). E.A. Malakhova, Y.M. Torchinski, Dokl. Akad. Nauk. - SSSR, 161, 1224 (1965)
- (62). H.F. Schott, W.G. Clark, J. Biol. Chem., 196, 449 - (1952)
- (63). D.L. Vicent, C.B. Purres, Can. J. Chem., 34, 1302 - (1956)
- (64). J.H. Davies, R.H. Davies, R.A.G. Harrington, J. Chem. Soc. P.I, 1983 (1972)
- (65). R.H. Herbst, D. Shemin, Org. Synth. Coll. , Vol II - 11 (1943)
- (66). E.D. Amstutz, R.R. Myers, Org. Synth. Coll., Vol II - 462 (1943)
- (67). F. Arndt, Org. Synth. Coll., Vol II, 165 (1943)
- (68). J.W. Cornforth. "Oxazoles and oxazolones" en "The - Chem. of Penicillium" Ed. Princeton University Press pp 688-848 (1949)
- (69). E.P. Abraham, E.B. Chain, W.Baker, R. Robinson. Patente Británica 588101 (1947). C. A. 42, 2287 (1948)
- (70). R.M. Washburns, E. Levens, C.F. Albright, F.A. Billig, Advances in Chem. Ser., 23, 129-57 (1959)
- (71). J.F.W. Mc Omie, M.L. Watts, D.E. West, Tetrahedron, - 24, 2289 (1968)

- (72). A.M. Felix, J. Org. Chem., 39, 1427 (1974)
- (73). J.H. Fellman, E.S. Roth, Biochem., 10, 409 (1971)
- (74). T. Nagatsu, "Biochemistry of Catecholamines. The Biochemical Method" Univ. Park Press, pp 166-170; 50-60 y 303-304 (1973)
- (75). N.W. Umbreit, R.H. Burris y J.F. Stauffer, "Manometric Techniques". Burgess Publ. Co. Minneapolis, Min. , Co pit. 1 a 4, pp 1 a 63 (1959)
- (76). O. Schales, "Aminoacid descarboxilases in animals", en "Methods in Enzymology". Eds. SP. Colowick y N.O. Kaplan, Vol 2, p 195. Academic Press N. Y. (1955)
- (77). W.J. Hartman, R.I. Akawie, W.G. Clark, J. Biol. Chem., 216, 507 (1955)
- (78). V.E. Davis, J. Awapara, J. Biol. Chem., 235, 124-132 (1960)
- (79). P. Larudon, F. Belpaire, Anal. Biochem., 26, 210 (1968)
- (80). E.E. Smissman, R.L. Inloes, S. El-Antably, P.J. Schaffer, J. Med. Chem., 19, 161 (1976)
- (81). M. Dixon, E.C. Webb, "Enzymes", 2<sup>nd</sup> Ed. Longmans Green Co., (1964)
- (82). T.L. Sourkes, Arch. Biochem. Bioph., 51, 444 (1954)
- (83). Y.E. Blackwood, C.L. Cladys, K.L. Loening, A.E. Petarca, J.E. Rush, J. Am. Chem. Soc., 90, 509 (1968)