



Síntesis y caracterización de los derivados N-carbamoilo e hidantoina de la L-prolina

Luis E. Seijas¹, Gerzon E. Delgado^{1*}, Asiló J. Mora¹, Alí Bahsas² y Jorge Uzcátegui³

¹Laboratorio de Cristalografía, ²Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear, ³Laboratorio de Físicoquímica Orgánica. Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de los Andes, Mérida-5101, Venezuela. *e-mail: gerzon@ula.ve

Recibido: 31/05/2006

Aceptado: 30/09/2006

RESUMEN

En este trabajo se presenta la síntesis de los compuestos: ácido (2S)-1-carbamoilo pirrolidín-2-carboxílico (N-carbamoilo-L-prolina) y (S)-tetrahidro-pirrol-[1,2-c]-imidazol-1,3-diona (hidantoin-L-prolina). Estos materiales se caracterizaron por técnicas espectroscópicas de FT-IR y RMN uni y bidimensional. El estudio por difracción de rayos-X en muestras policristalinas indicó que ambos compuestos cristalizan en celdas ortorrómbicas con grupo espacial $P2_12_12_1$ y parámetros de celda unidad $a = 12.495(1) \text{ \AA}$, $b = 9.7672(6) \text{ \AA}$, $c = 6.4571(7) \text{ \AA}$, y $a = 11.358(2) \text{ \AA}$, $b = 7.992(1) \text{ \AA}$, $c = 7.1262(6) \text{ \AA}$, para el N-carbamoilo y la hidantoina, respectivamente. **Palabras claves:** Aminoácidos, N-carbamoilos, Hidantoinas, Difracción de rayos-X en muestras policristalinas

ABSTRACT

In this work we present the synthesis of (2S)-1-carbamoyl-pyrrolidine-2-carboxylic acid (N-carbamoyl-L-proline) and (S)-tetrahydro-pyrrol-[1,2-c]-imidazole-1,3-dione (hidantoin-L-proline). These materials were characterized by the FT-IR and NMR uni and bidimensional spectroscopic techniques. X-ray powder diffraction study indicated that both compounds crystallizes in orthorhombic cells, space group $P2_12_12_1$ and unit cell parameters $a = 12.495(1) \text{ \AA}$, $b = 9.7672(6) \text{ \AA}$, $c = 6.4571(7) \text{ \AA}$, and $a = 11.358(2) \text{ \AA}$, $b = 7.992(1) \text{ \AA}$, $c = 7.1262(6)(7) \text{ \AA}$, for N-carbamoyl and hydantoin, respectively. **Keywords:** Amino acids, N-carbamoyl, Hydantoin, X-ray powder diffraction.

Introducción

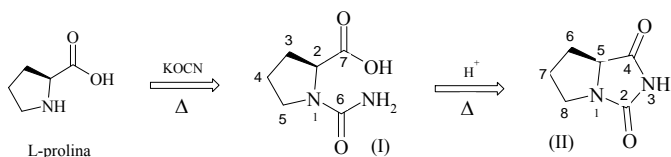
Los ácidos hidantóicos (N - carbamoilo de aminoácidos) y las hidantoinas (imidazolidin-2,4-dionas) constituyen derivados de los α -aminoácidos naturales que presentan interesantes aplicaciones biológicas. Los N-carbamoilo aminoácidos poseen una alta actividad biológica como inhibidores de los ácidos amino descarboxilasas¹, mientras que las hidantoinas muestran un gran potencial fármacológico²; además, ambos grupos de derivados se encuentran estrechamente ligados en procesos de conversión microbianos³. Por todo esto, la síntesis y caracterización de este tipo de compuesto es de gran interés. En este trabajo se reporta la síntesis y la caracterización de los derivados N-carbamoilo e hidantoina de la L-prolina, utilizando

espectroscopía FT-IR y RMN, así como difracción de rayos-X en muestras policristalinas.

Experimental

Los compuestos N-carbamoilo-L-prolina (I), ácido (2S) - 1 - carbamoilo pirrolidín - 2 - carboxílico, ($C_6H_{10}N_2O_3$) e hidantoin-L-prolina (II), (S)-tetrahidro - pirrol - [1,2-c] - imidazol - 1,3 - diona, ($C_6H_8N_2O_2$) fueron sintetizados utilizando una modificación de dos procedimientos reportados en la literatura^{4,5}. La L-prolina se disolvió en agua y se acidificó con unas gotas de HCl concentrado (37% v/v) (pH \approx 5-6); luego se le añadió KOCN calentando hasta 60°C, en una proporción 1:3 con respecto al aminoácido, con agitación magnética, durante 3 horas. La solución resultante se dejó enfriar para acidificar

nuevamente con HCl (pH \approx 3-4), hasta lograr la precipitación del N-carbamoilo con un rendimiento experimental del 62%. Una parte del precipitado se disolvió en una solución de HCl (pH \approx 1-2) y se sometió a reflujo durante 4 horas, obteniéndose la hidantoina con un rendimiento del 72%. El esquema 1 muestra la representación de la síntesis de los dos derivados. Los puntos de fusión se midieron en un aparato Electrothermal modelo 9100. Los espectros de FT-IR fueron obtenidos utilizando pastillas de KBr en un equipo Perkin-Elmer 1600. Los espectros RMN- ^1H , RMN- ^{13}C , COSY, HMBC y HMQC se obtuvieron en un espectrómetro Bruker Avance DRX 400, utilizando dimetilsulfóxido (DMSO) como solvente. Los datos de difracción de rayos-X en muestra policristalina se obtuvieron en un difractómetro con goniómetro Philips PW1050/25 utilizando radiación de $\text{CuK}_{\alpha 1}$ ($\lambda = 1.54056 \text{ \AA}$).



Esquema 1. Representación de la síntesis de los derivados N-carbamoil-L-prolina (I) e hidantoin-L-prolina (II).

Discusión de resultados

Los puntos de fusión medidos para los productos obtenidos fueron: derivado N-carbamoil-L-prolina 203-204 °C y derivado hidantoin-L-prolina 210-212 °C.

Los espectros de FT-IR muestran las bandas de absorción características debidas a las vibraciones de tensión C=O. En el N-carbamoilo aparecen en 1695,5 cm^{-1} (grupo ácido) y en 1660,8 cm^{-1} (grupo ureido). En la hidantoina aparecen dos bandas de absorción debidas a vibraciones C=O acopladas, en 1757.6 cm^{-1} para la tensión simétrica y en 1708.7 cm^{-1} para la tensión asimétrica. Estas bandas acopladas se han reportado también en algunas hidantoinas 5,5 di-sustituidas⁶.

Los espectros RMN mostraron las siguientes

señales para el N-carbamoilo: RMN- ^1H δ =12.45 (s, COOH), 5.88 (s, CONH₂), 4.14 (t, H-2), 3.32 (c, H-5 α), 3.23 (c, H-5 β), 1.84 (q, H-3 α), 2.06 (q, H-3 β),

1.84 (H-4) y RMN- ^{13}C δ =174.7 (C-7), 157.2 (C-6), 58.4 (C-2), 46.4 (C-5), 29.6 (C-3), 24.4 (C-4). En la figura 1a se muestra el espectro COSY para el N-carbamoilo de la L-prolina, donde se observa que las señales de los protones H-3 α y H-3 β presentan un patrón característico de protones diasterotópicos, lo que sugiere un solapamiento de señales a 1.84 ppm. La señal del protón metínico H-2 presenta correlación con H-3 α y H-3 β . H-5 α y H-5 β muestran también el patrón característico de protones diasterotópicos, además de presentar interacción con H-4 en 1.84 ppm, lo que confirma el solapamiento de las señales. La figura 1b muestra el espectro HMQC, donde se observa que efectivamente las señales de H-5 α y H-5 β se correlacionan con el carbono C-5. También, como era de esperarse, se observa las correlaciones de H-3 α y H-3 β con C-3 y de H-4 con C-4. La Figura 1c muestra el espectro HMBC. En éste se observa que H-2 muestra una correlación con C-3, C-6 y C-7, H-5 α y H-5 β lo hacen con C-4, mientras que solo H-5 β se correlaciona con C-3. H-3 α exhibe correlación con C-4, C-2 y C-7 mientras que H-3 β se correlaciona con C-7. Finalmente, el protón H-4 se correlaciona con C-3 y C-5.

Para la hidantoina: RMN- ^1H δ =7.27 (OCNHCO), 4.07 (t, H-3), 3.43 (c, H-8 α), 3.02 (c, H-8 β), 2.03 (q, H-6 α), 1.60 (q, H-6 β), 1.90 (m, H-7 α), 1.93 (H-7 β) y RMN- ^{13}C δ =161.0 (C-2), 174.5 (C-4), 64.0 (C-5), 44.9 (C-8), 26.7 (C-6), 26.6 (C-7).

La figura 2a muestra el espectro COSY para la hidantoina de la L-prolina, en el cual se observa como los protones H-6 α y H-6 β exhiben un patrón característico de protones diasterotópicos y correlación entre ellos. Ambos protones se correlacionan con H-7 α y H-7 β . H-8 α y H-8 β ; también se correlacionan entre sí para formar un patrón característico de protones diasterotópicos, mostrando a su vez interacción con H-7 α y H-7 β . En el espectro HMQC (figura 2b) se observa claramente como H-8 α y H-8 β se correlacionan ambos con el carbono C-8 y los protones H-6 α y H-6 β con C-6. En el espectro HMBC (Figura 2c) se muestra la correlación de H-5 y H-8 β con C-7; se observa, del mismo modo, la correlación de H-5,

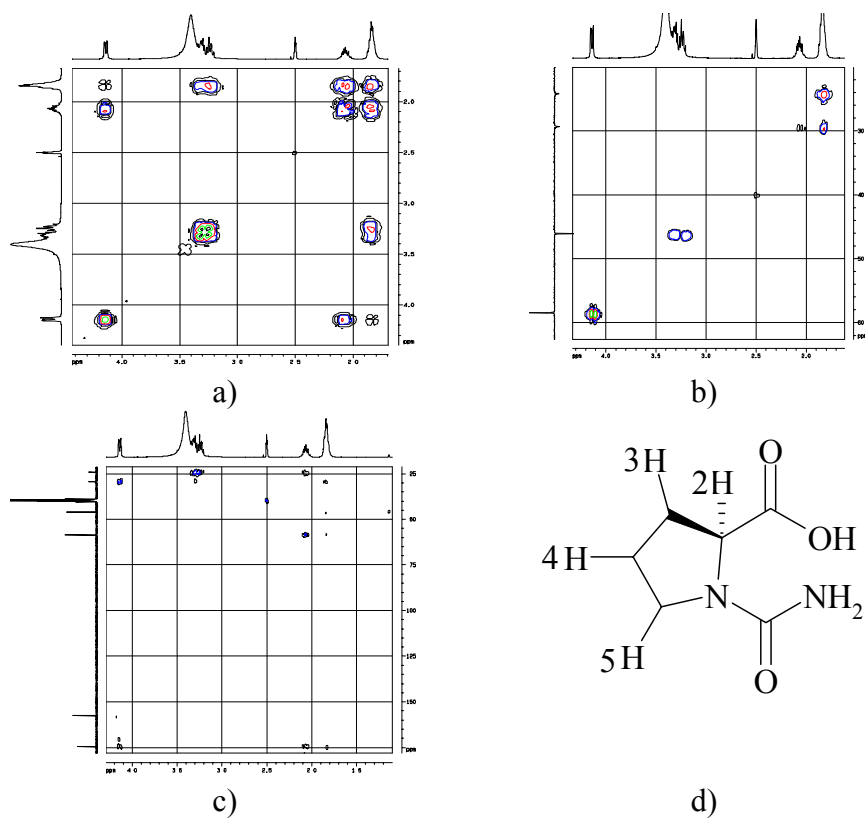


Figura 1. Espectros COSY ^1H - ^1H (a), HMQC (b), HMBC (c) y diagrama molecular del N-carbamoyl-L-prolina.

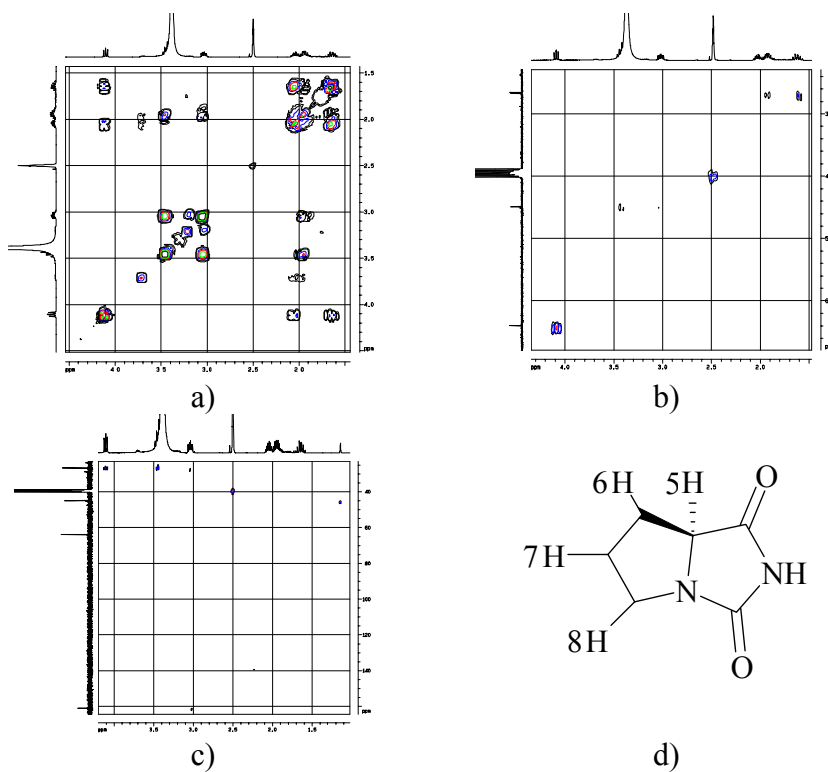


Figura 2. Espectros COSY ^1H - ^1H (a), HMQC (b), HMBC (c) y diagrama molecular de la hidantoin-L-prolina.

H-8 α y H-8 β con el carbono C-6, así como la interacción de H-8 β con C-2.

El análisis de los espectros RMN uni y bidimensionales confirman la obtención de los derivados esperados. El estudio de los difractogramas de polvo indica la presencia de una sola fase en cada uno de los derivados. El indexado de los patrones se realizó utilizando el programa Dicvol04⁷. Ambos compuestos cristalizan en celdas ortorrómbicas con los parámetros de celda unidad mostrados en la Tabla 1. En esta Tabla se indican también las figuras de mérito del indexado. Un estudio de las ausencias sistemáticas indica que pertenecen al grupo espacial P2₁2₁2₁.

Las celdas obtenidas se refinaron sin modelo estructural utilizando el programa Fullprof^{9,10}. La figura 3 muestra el resultado del refinamiento observándose un buen ajuste entre los patrones observado y calculado para cada derivado.

En la Tabla 1 se observa como el volumen de la celda unidad sufre una contracción de aproximadamente 150 Å³, producto del reordenamiento ocurrido en la molécula al pasar de una especie abierta (N-carbamoilo) a una especie cerrada (hidantoina), esperándose que la obtención de cristales adecuados permita el estudio de la estructura cristalina de ambos compuestos por medio de difracción de rayos-X en monocristal.

Tabla 1. Parámetros de celda unidad obtenidos para cada derivado luego del indexado.

Derivado	<i>a</i> (Å)	<i>b</i> (Å)	<i>c</i> (Å)	V (Å ³)	M ₍₂₀₎ ⁸	F ₍₂₀₎ ⁸
N-carbamoilo-L-prolina (C ₆ H ₁₀ N ₂ O ₃)	12.495(1)	9.7672(6)	6.4571(7)	788.0(1)	52.9	44.6
hidantoin-L-prolina (C ₆ H ₈ N ₂ O ₂)	11.358(2)	7.992(1)	7.1262(6)	646.8(1)	27.9	50.1

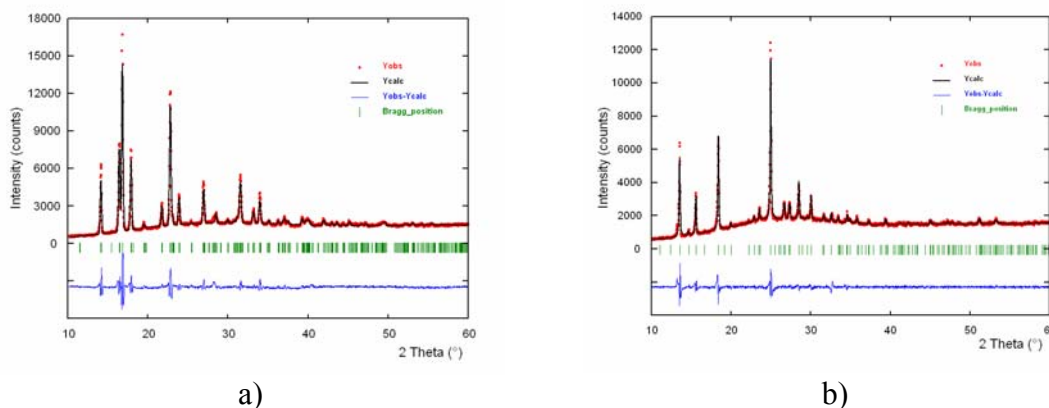


Figura 3. Gráficas del ajuste de las celdas encontradas para el N-carbamoilo-L-prolina (a) e hidantoin-L-prolina (b).

Conclusiones

La caracterización espectroscópica por FT-IR y RMN confirmó la obtención de los dos derivados de la L-prolina: el ácido (2S)-1-carbamoilo pirrolidín-2-carboxílico (N-carbamoilo-L-prolina) y el (S)-tetrahydro - pirrol - [1,2-c] - imidazol - 1,3 - diona (hidantoin - L - prolina). Ambos compuestos

cristalizan en celdas ortorrómbicas con grupo espacial P2₁2₁2₁.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado gracias al CDCHT-ULA (Proyectos C-1416-06-08-B y C-1417-06-08-F) y al FONACIT (Proyecto LAB-97000821).

Referencias

- [1] J. Viret, J. Gabard and A. Collet. Practical synthesis of optically active α -hydrazino acids from α -amino acids. *Tetrahedron* **43**(5), 891-894 (1987).
- [2] E. Kleinpeter. The structure of hydantoins in solution and in the solid state. *Struc. Chem.* **8**, 161-173 (1997).
- [3] T. Ohmachi, M. Narita, M. Kawata, A. Bizen, Y. Tamura and Y. Asada. A novel N-carbamoyl-L-amino acid amidohydrolase of *Pseudomonas* sp strain ON-4a: purification and characterization of N-carbamoyl-L-cysteine amidohydrolase expressed in *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* **65**, 686-693 (2004).
- [4] D. F. Reinhold, R. A. Firestone, W. A. Gaines, J. M. Chemerda and M. Sletzing. Synthesis of L-alpha-methyl-dopa from asymmetric intermediates. *J. Org. Chem.* **33**, 1209-1213 (1968).
- [5] J. Taillades, L. Boiteau, I. Beuzelin, O. Lagrille, J.P. Biron, W. Vayaboury, O. Vandenabeele, O. Giani and A. Commeyras. A pH-dependent cyanate reactivity model: application to preparative N-carbamoylation of amino acids. *J. Chem. Soc., Perkin Trans.*, **2**, 1247-1254 (2001).
- [6] E. Kleinpeter, S. Klod, A. Perjéssy, M. Šamalíková, K. Synderlata and Z. Šusteková. Correlation analysis of characteristic infrared spectral data of hydantoin derivatives: evidence for vibrational coupling. *J. Mol. Struct.*, **645**, 17-27 (2003).
- [7] A. Boultif, and D. Louër. Powder pattern indexing with the dichotomy method. *J. Appl. Cryst.*, **37**, 724-731 (2004).
- [8] P.M. de Wolff. A simplified criterion for the reliability of a powder pattern indexing. *J. Appl. Cryst.*, **1**, 108-113 (1968).
- [9] J. Rodriguez-Carvajal, Fullprof: (version 3.2, 2005), Laboratoire Léon Brillouin (CEA-CNRS), France.
- [10] T. Roisnel and J. Rodriguez-Carvajal. WinPLOTR: A windows tool for powder diffraction pattern analysis. *Mater. Sci. Forum*, **118**, 378-381 (2001).