

**CNEA - 178**

REPUBLICA ARGENTINA  
COMISION NACIONAL DE ENERGIA ATOMICA

---

SOBRE LA SINTESIS DE LA INDIGOTINA A PARTIR  
DE ACIDÒ N - (CARBOXIMETIL) - ANTRANILICO

por

Mauricio F. Bühler, Aldo E. A. Mitta y Rodolfo López

==

BUENOS AIRES

1966

---

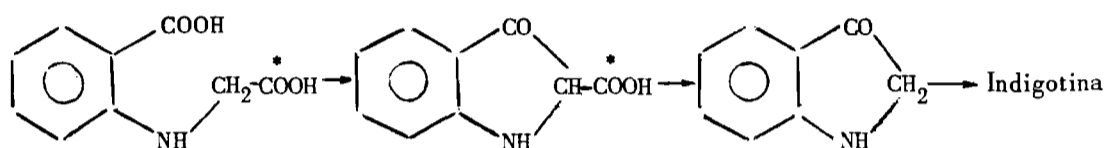
---

## SOBRE LA SINTESIS DE LA INDIGOTINA A PARTIR DE ACIDO N-(CARBOXIMETIL)-ANTRANILICO\*

Mauricio F. Bühler, Aldo E. A. Mitta y Rodolfo López  
Comisión Nacional de Energía Atómica

### INTRODUCCION

Desde hace mucho tiempo se admite que la síntesis de la indigotina por fusión alcalina del ácido N-(carboximetil)-antranílico tiene lugar con la formación intermedia de la sal del ácido indoxílico (ácido 3-Hidroxilindol-2 carboxílico)(1).



Sin embargo, no se halló en la bibliografía ninguna prueba directa de este aserto, excepto la mención de una antigua patente de la Badische Anilin und Soda Fabrik (2), en la que se afirma que al calentar a 235-265°, en ausencia de aire una mezcla de la sal sódica del ácido N-(carboximetil)-antranílico con dos veces su peso de hidróxido, se forma indoxilato de sodio. Por acidificación de la masa proveniente de la fusión con ácido sulfúrico diluido, mientras se enfría la mezcla, se habría aislado el ácido indoxílico.

Por otra parte, es conocido que el ácido indoxílico como beta-ceto-ácido, se descarboxila con suma facilidad y que la oxidación del indoxilo, (3-hidroxilindol), resultante conduce a la formación de la indigotina; todo esto en condiciones análogas a las de la elaboración de la masa proveniente de la fusión alcalina en la síntesis de la indigotina (3).

Aunque también se forma indigotina sustituyendo el ácido N-(carboximetil)-antranílico por N-fenilglicina (y en realidad es este el procedimiento industrial que alcanzó su máxima eficiencia cuando con el empleo de amida sódica en lugar del hidróxido se logró suprimir la reacción hidrolítica que por acción del agua formada invertía el signo la reacción y afectaba notablemente los rendimientos) esto ocurre a una temperatura más elevada, y por lo tanto no es probable que una descarboxilación del ácido N-(carboximetil)-antranílico a N-fenilglicina sea, en lugar del ácido indoxílico, la etapa previa a la formación del indoxilo.

De cualquier modo se estimó de interés dilucidar en forma inequívoca, mediante un experimento con C-14 como trazador, cual de los carboxilos de ácido N-(carboximetil)-antranílico participa en la formación del heterociclo del indoxilo y cual es eliminado durante la reacción.

\* Trabajo presentado a las XI Sesiones Químicas de Bahía Blanca - 1964.

De los "Anales de la Asociación Química Argentina" tomo 53, pág. 233-237 (1965).

Para ello se preparó ácido N-(carboxi-C-14-metil)-antranílico (no se conocen antecedentes de que esta sustancia haya sido marcada anteriormente) por reacción entre el ácido antranílico y el ácido monobromoacético-1-C-14, se lo sometió a la fusión alcalina y se oxidó por burbujeo con aire u oxígeno la solución resultante. La indigotina formada fue purificada por lavado y varias sublimaciones hasta actividad constante.

El resultado obtenido confirma el mecanismo previamente admitido para la reacción, o sea la formación intermedia del ácido indoxílico aunque la pequeña actividad que presenta la indigotina obtenida hace pensar que de alguna manera, aunque en muy pequeña proporción (aprox. 0,6%) el carboxilo extranuclear tiene participación en la formación del heterociclo. Queda por el momento sin respuesta si esto ocurre por eliminación del carboxilo nuclear previa o posterior a la formación del ciclo; o si es debido a un intercambio de los carboxilos nuclear y extranuclear previo a la reacción de ciclización.

Que la débil radioactividad que presenta la indigotina preparada es propia, de esa sustancia y no una impureza radioactiva, fue confirmado degradando la indigotina a isatina (indo-2,3-diona) (4) y constatando que retiene actividad.

## PARTE EXPERIMENTAL

### *Bromuro de acetilo 1-C-14.*

(5) 1,64 g (0,02 Moles) de acetato de sodio-1-C-14 (1,053 g de una actividad específica de 47,5  $\mu\text{c}/\text{mM}$  y 0,587 g inactivo) (factor de dilución 1,55), se pulverizan en un mortero con 1,95 g (16 mmoles) de ácido benzoico y se pasan con ayuda de dos porciones de 2 moles cada una (0,244 g) de ácido benzoico a un pequeño balón de destilación. Se añade al mismo 10 ml (85 mmol) de bromuro de benzoilo preparado según (6), se coloca en el cuello del balón un tapón de vidrio y se destila calentando en un baño de glicerina. La operación se realiza con cuidado, destilando suavemente el bromuro de acetilo, requiriéndose unas tres horas para terminarla, para lo que es preciso, hacia el final, elevar la temperatura del baño a más de 170°C. El producto recogido en un baño de hielo y sal es un líquido móvil, PE = 72-76°C prácticamente incoloro (2,2 g = 89%; s/(5) 75-90%).

### *Acido bromoacético 1-C-14*

Al bromuro de acetilo marcado destilado y enfriado con hielo, se agrega 1,2 ml de bromo secado sobre pentóxido de fósforo y se calienta en baño de María hirviendo durante una hora y media. Luego de enfriar se hidroliza con 5 ml agua y se elimina el exceso de bromo mediante una corriente de aire y se lleva el producto a unos 10 ml con agua.

### *Acido N-(carboximetil)-antranílico $\Omega$ C-14.*

Para la preparación de la o-carboxifenilglicina-omega-C-14 se sigue las indicaciones del procedimiento descrito por Schyer (7) adaptando los resultados del estudio de Haller (8) pero sustituyendo el ácido cloroacético por ácido bromoacético-1-C-14.

A una suspensión de 15 g (0,11 mol) de ácido antranílico en 80 ml de agua en un balón de 1 litro provisto de refrigerante a reflujo y de agitador con cierre de mercurio, se añade una solución preparada por agregado de 7,5 g (0,054 moles) de ácido bromoacético inactivo a una solución que contiene de 13,5 g de carbonato de sodio anhidro en 25 ml de agua y finalmente, lavado con 5 ml de agua el baloncito que contiene la solución del ácido bromoacético activo preparado. El conjunto se calienta a 90° durante una hora, agitando continuamente. Se enfría con agitación, y se precipita acidificando con ácido clorhídrico (1:1) hasta pH inferior a 2. Se deja 24 horas en la heladera, se filtra, se lava con agua helada y se seca en la estufa a 100-110°C. Se obtiene 9,5 g 72% respecto del ácido bromoacético de PF: 206°C (s/bibliografía 207°C). De las aguas madres se recupera el ácido antranílico que no reaccionó por agregado de acetato de sodio y reposo en la heladera.

La o-carboxifenilglicina activa se recristaliza de agua.

#### Preparación de indigotina (9).

En un crisol de níquel se calienta una mezcla de o-carboxifenilglicina, hidróxido de sodio y agua en las proporciones 1:5:1. Se disuelve el hidróxido, en el agua y luego se empasta la o-carboxifenilglicina agitando con un alambre de cobre. Cuando la masa funde y toma un color anaranjado se sumerge el crisol en agua y se genera la indigotina haciendo burbujear aire y oxígeno por la solución durante unas seis horas.

La tabla siguiente resume los resultados de las fusiones alcalinas de la o-carboxifenilglicina.

TABLA

<i>o-carboxifenilglicina</i>	<i>Temperatura</i>	<i>Tiempo</i>	<i>Indigotina Obtenida</i>	<i>Rendimiento</i>
2 g	220 - 30°C	1 h.	0,135 g	10,0 %
2 g	ap. 260°C	1 h.	0,187 g	13,9 %
2 g	220 - 300°C	15 min.	0,230 g	17,6 %
2 g	300°C		0,394 g	29,3 %
2 g	Llama direc.		0,205 g	15,2 %
3 g en forma de sal de sodio	Llama direc.		0,173 g	8,5 %
4 g	Llama direc.		1,084 g	40,2 %

El curso de la fusión (cuando se usa el baño de aire) se puede seguir sacando a intervalos el agitador y observando el color de las muestras adheridas al mismo. Finalizada la oxidación se acidifica para facilitar la filtración, con ácido clorhídrico, se lava la indigotina con agua caliente y se la seca a 100-110°C.

#### Sublimación de la indigotina.

Se realiza al vacío (presión inferior a 1 cm de Hg) en baño de arena a 300-320°C. La sublimación es lenta, requiriéndose unas 3 o 4 horas para 100 mg.

**Preparación de la isatina.**

Para la oxidación de la indigotina a isatina se siguen las indicaciones de Rabinovich y Dairkal (4), operando en tubo de ensayo sobre aproximadamente 0,25 mmol de indigotina.

**Mediciones de radioactividad.**

Estas se realizan a espesor infinito con un tubo Geiger Muller (Tracerlab TGC-2) de ventana fina. Las muestras se miden en forma de polvo bien fino.

La tabla siguiente resume los resultados obtenidos (los números corresponden a cuentas por minuto corregidas por tiempo de resolución del tubo y por fondo).

<i>Muestras</i>	<i>Cuentas por min.</i>	<i>Relación muestra/stand.</i>	<i>Activ. espec. (uC/mM)</i>	<i>% de la act. esp. orig.</i>
o-Carboxifenilglicina bruta (o-CFG) Standard (x)	6406 272	23,6	----	---
o-CFG, la recrist. Standard	6141 277	22,2	----	---
o-CFG, 2a. recrist. Standard	6195 273	22,7	5,6 (a)	
Indigotina, la sublim. Standard	637 2594	0,24	----	---
Indigotina, 2a. sublim. Standard	532 269	0,20	0,033	---
Indigotina, 3a. sublim. Standard	526 2735	----	----	---
Indigotina, 3a. sublim.	530	0,20	0,033	0,6
Acetato de sodio (*) Standard	2196 2545	0,863	0,090	---

(x) Standard de fenilacetato de litio de 1,27  $\mu\text{C}/\text{mg}$ .

(\*) El acetato de sodio empleado para la preparación de la o-CFG fué diluido 528 veces para hacer la medición; su actividad específica es pues  $528 \times 0,09 = 47,5 \text{ uC}/\text{mM}$ . (a) Relacionado con la actividad específica del acetato usado en la preparación, el rendimiento o-CFG a partir del mismo en 68,5% considerando que el ácido bromoacético se diluyó 5,8 veces.

Dos ensayos previos realizados con una o-carboxifenilglicina de  $0,9 \text{ uC}/\text{mM}$  dieron indigotinas con una actividad específica de  $2,6 \text{ uC}/\text{mM}$ , lo que significa una retención del 0,3 y 0,5% de la radioactividad original.

## BIBLIOGRAFIA

1. HEUMANN, K. - Ber. 23, 3431 (1890).
  2. BASF, DRP - 85071, Frdl. 4, 1032; s/Beilstein XXII, 226.
  3. BAEYER, A. - Ber. 14, 1745 (1881).
  4. RABINOVICH, P. N. DZIRKAL, V. K. - S.C. A., 28 475 (1934).
  5. ANKER, H. S. - Patente alemana 123.052, Z. 1901, XX 518 S/J. Biol. Chem., 176, 1333 (1948).
  6. CLAISEN, L. - Ber., 14, 2473 (1881).
  7. SCHAYER, R. M., y Biol. Chem. 187 777 (1950) s/A. Murray III, D. L. WILLIAMS, *Organic Syntheses with Isotopes*, Inters Publ. Inc. New York. 1958, Part II, 1809.
  8. HALLER, H. L., Ind. Eng. Chem. 14 1040 (1922).
  9. VOGEL, A. I., *Practical Organic Chemistry*, Longmans, Green & Co. New York - 1948 p. 849.
-

---