

24
24

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



SINTESIS DEL ACIDO S-4-AMINO-2- HIDROXIBUTIRICO (HABA)



CONVENIO PROFESIONALIZANTE
FAC. DE QUIMICA

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
Q U I M I C O
P R E S E N T A :
GLORIA LYDIA GUTIERREZ SALAZAR



MEXICO, D. F.

1991

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

UNAM



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE DE CONTENIDO

INTRODUCCION.	1
GENERALIDADES.	3
CLASIFICACION DE LOS ANTIBIOTICOS.	6
ACCION ANTIBACTERIANA DE ANTIBIOTICOS AMINOGLUCOSIDOS.	11
ANTIBIOTICOS SEMISINTETICOS.	15
IMPORTANCIA DEL HABA.	20
METODOS DE SINTESIS.	21
IMPORTANCIA DE LOS INTERMEDIARIOS DE LA SINTESIS.	23
CROMATOGRAFIA DE INTERCAMBIO IONICO.	29
DISCUSION Y RESULTADOS.	43
PARTE EXPERIMENTAL.	61
CONCLUSIONES.	65
BIBLIOGRAFIA.	66
ESPECTROS.	69

INTRODUCCION

En la última década los avances científicos se han incrementado notablemente, de tal forma que obliga a los países en vías de desarrollo a poner mayor atención en impulsar su propia investigación, lo que evitará quedar al margen del manejo de la información y la tecnología, contribuyendo así al desarrollo de dichos países. Tales investigaciones deben estar enfocadas a resolver problemas nacionales para crear nuevas tecnologías capaces de ser implementadas en condiciones accesibles que logren mantener un mercado interno, evitando la importación, tanto de medios, como de procedimientos para la manufactura de productos necesarios dentro de cada país.

El ácido S-4-amino-2-hidroxitubúrico (HABA), es un producto de gran importancia para la industria farmacéutica. Este componente es valioso en la preparación de antibióticos semisintéticos; (Habekacina, amikacina etc.), ya que este aminoácido es capaz de incrementar la acción bacteriana de antibióticos aminoglicósidos. Se ha demostrado que esta molécula (HABA) unida en el carbono uno de estos antibióticos imparte mayor potencialidad a las moléculas en estudio. Los antibióticos semisintéticos obtenidos de estas modificaciones químicas son ya usados a nivel hospitalario con buenos resultados. Es importante señalar que la preparación del HABA está bajo patente y únicamente es preparado en tres países del mundo.

Por lo anterior se sintetizó el ácido S-4-amino-2-hidroxitubúrico HABA a nivel de laboratorio, usando materias primas de bajo costo y accesibles en el mercado nacional, con el fin de aportar la posibilidad de preparar en México el HABA a nivel industrial.

En este trabajo se presenta⁴⁰ una ruta sintética estereoselectiva del HABA. Esta síntesis

Involucra la preparación de intermediarios de gran importancia química ya que son usados en la preparación de otros productos farmacéuticos y de feromonas. Esta síntesis también involucra el uso de resinas de intercambio iónico (R.I.I.) para la purificación de los productos, por lo que en este trabajo también se incluye información acerca del manejo de las resinas de intercambio iónico.

GENERALIDADES

ANTIBIÓTICOS.

Los antibióticos son sustancias químicas producidas por microorganismos que tienen la capacidad, a bajas concentraciones, de inhibir el desarrollo o destruir las bacterias y otros microorganismos. El hecho de que algunos antibióticos, como el cloranfenicol se produzcan sintéticamente no invalida esta definición, pues en un principio estas sustancias fueron aisladas de microorganismos. Ahora bien, los antibióticos útiles son los que tienen acciones quimioterapéuticas y toxicidad selectiva para los microorganismos. Los mecanismos de acción de los antibióticos, son cuatro y se hayan ligados estrechamente con los mecanismos fisiológicos de las bacterias.

INHIBICION DE LA SINTESIS DE PARED CELULAR.

El componente esencial de la pared celular es un mucopéptido, cuya síntesis es impedida por el antibiótico al inhibir los sistemas enzimáticos correspondientes a dicho proceso de reproducción. La nueva célula tendrá una pared celular defectuosa que será osmóticamente sensible, penetrando líquido en su interior lo que hará que estalle o se lise. Por este mecanismo actúan las cefalosporinas, cefalinas, bacitracinas y cicloerina.

LISIS DE LA MEMBRANA CELULAR.

Al lisis la membrana se afectan importantes funciones celulares, pues en la membrana existen sistemas enzimáticos vitales, además ésta rige la entrada y salida de los elementos nutritivos. Mediante este mecanismo actúan la polimixina .B, colistina, nistatina y anfotericina

B

INHIBICIÓN DE SÍNTESIS PROTEICA

Algunos antibióticos bloquean los pasos necesarios para la síntesis de proteínas, actuando sobre los ribosomas, en esta forma la vida de la bacteria queda afectada. Es así como actúan el cloranfenicol, las tetraciclinas, estreptomycinas, kanamicinas, rifampicina, lincomicina y eritromicina.

INHIBICIÓN DE LA SÍNTESIS DE ÁCIDOS NUCLEICOS

No es necesario referirse a la importancia de un trastorno de la síntesis de ácidos nucleicos, especialmente del ácido desoxirribonucleico, componente esencial de las nucleoproteínas; los antibióticos que pueden actuar inhibiendo dicha síntesis son; la griseofulvina y el ácido nalidixico

Estos son, a grandes rasgos, los procesos inhibitorios o mecanismos de acción de los antibióticos. Ahora, para que una sustancia pueda clasificarse dentro de los antibióticos es deseable que cumpla las siguientes características:

- a) Acción antibacteriana selectiva y potente, de preferencia sobre una amplia serie de microorganismos (amplio espectro)
- b) Ser bactericida, así su acción curativa es más rápida que si fuese bacteriostático.
- c) Debe ejercer su actividad antibacteriana en presencia de los líquidos del organismo o exudados y no ser destruidos por las enzimas tisulares.
- d) No ha de perturbar las defensas del organismo, pero tendrá las concentraciones necesarias para afectar al agente infeccioso, no debe dañar los leucocitos ni lesionar los tejidos de huésped.
- e) Debe tener un índice quimioterapéutico conveniente y aun a las dosis máximas requeridas durante periodos muy largos, no deben producir reacciones adversas de importancia.
- f) La absorción, distribución, destino y excreción deben ser tales que sea fácil conseguir

rapidamente niveles bacterianos en la sangre, tejidos y líquidos tisulares incluyendo orina.
Dichos niveles deberán mantenerse el tiempo necesario para lograr su efecto.

- g) El antibiótico no ha de producir fenómenos de sensibilización alérgica
- h) No debe de provocar el desarrollo de resistencia en microorganismos susceptibles.
- i) Debe ser efectivo por todas las vías de administración
- j) Debe poder fabricarse en grandes cantidades y a un precio razonable.

CLASIFICACION DE LOS ANTIBIOTICOS

Existen diversas clasificaciones de los antibioticos. Asi, si se toma en cuenta su origen se establecen tres grupos.

- a) Antibióticos producidos por hongos (penicilinas)
- b) Antibiótico producidos por actinomicetos (estreptomina, tetraciclina, kanamicina).
- c) Antibióticos producidos por bacterias (tirotricina)

Esta clasificación no es util desde el punto de vista farmacológico, por lo que se creó una clasificación basada en la extensión del espectro antimicrobiano, es decir el conjunto de grupos de gérmenes susceptibles, por ejemplo: bacterias gram positivo, bacterias gram negativo espiroquetas, rickettsias, etc.

ANTIBIOTICOS DE ESPECTRO REDUCIDO.

Son los antibioticos que poseen actividad antimicrobiana sobre pocos grupos de gérmenes, abarcando un número relativamente pequeño de especies de microorganismos, son predominantemente bactericidas.

ANTIBIOTICOS DE AMPLIO ESPECTRO.

Son aquellos que poseen actividad antimicrobiana sobre múltiples grupos de gérmenes, por ejemplo: bacterias, espiroquetas, rickettsias; abarcando un gran número de especies de los mismos, son predominantemente bacteriostáticos.

Estos antibioticos a su vez son divididos de acuerdo a su naturaleza química, como se muestra en el esquema 1.

Debido al enfoque de este trabajo hablaremos en particular de los antibioticos

aminoglucoídos. Con este nombre se describen los antibióticos de espectro reducido, que como su nombre lo indica son glucoídos que contienen dos o tres moléculas de azúcares que poseen grupos amino. Ejemplos de estos son: kanamicina, neomicina, gentamicina, paromomicina, y son obtenidos de los actinomicetos.

a) Kanamicina (Cristalomicina) se obtiene de los cultivos de *Streptomyces canamiticus*

b) Neomicina (Neomes) procede de *Streptomyces fradiae*, microorganismo aislado del suelo.

c) Gentamicina (Gentamina) se obtiene de *Micromonospora purpurea*, que se cultiva en tanques de fermentación.

d) Paromomicina (Humatin) deriva de *Streptomyces rimosus paromomicinus*.

e) Aminisidina (Gebromicina), se extrae de los cultivos de *Streptomyces Chrestamiceticus* y es idéntica a la paromomicina.

La composición química de estos antibióticos es la siguiente:

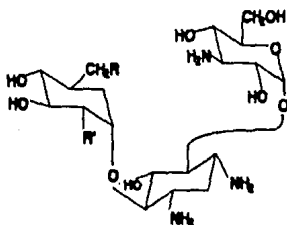
1) Kanamicina; 95% de kanamicina A y 5% de kanamicina B. Estas son sustancias polibásicas constituidas por deoxistreptamina que es la aglucone unida a la kanosamina ó 3-D-glucosamina y a la 6-D-glucosamina para la kanamicina A, y para la kanamicina B es la 2,6-D-glucosadilamina, en todos los casos se trata de amino-azúcares. Esquema 2.

2) Neomicina es una mezcla de sustancias, formada principalmente por neomicina B y neomicina C. Ambas están constituidas de la deoxistreptamina, disacárido formado a su vez por la unión de la D-ribosa y la neomicina C, en la que el último amino-azúcar neosamina puede ser B o C (la neosamina B y la neosamina C son esteroisómeros). Esquema 3.

3) Gentamicina, es una mezcla de partes iguales de gentamicina C_{1a} y gentamicina C₂, son

sustancias polibásicas de estructura semejante a las kanamicinas y constituidas por la deoxiestreptamina (aglucona común a todo este grupo de aminoglucosidos) unida a dos aminoazúcares, la purpurosamina y la gerosamina en la gentamicina C₁; la purpurosamina contiene dos grupos metilo, mientras que en la gentamicina C₂ dicho amino-azúcar contiene uno y la gentamicina C₃ no contiene ninguno. Esquema 4.

4) Paromomicina se constituye de paromomicina I y paromomicina II. Son sustancias polibásicas, de estructura semejante a las neosaminas de manera que la paromomicina I esta constituida por la aglucona, deoxiestreptamina unida a al 2-D-glucosamida y a un disacárido formado por D-ribosa y neosamina B; por su parte la paromomicina II se diferencia de la anterior por poseer neosamina C en vez de neosamina B. Esquema 3.



KANAMICINA A

KANAMICINA B

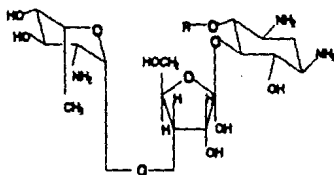
KANAMICINA C

$R=NH_2$ $R^1=OH$

$R=R^1=NH_2$

$R=OH$ $R^1=NH_2$

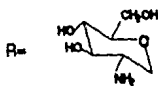
ESQUEMA No. 2



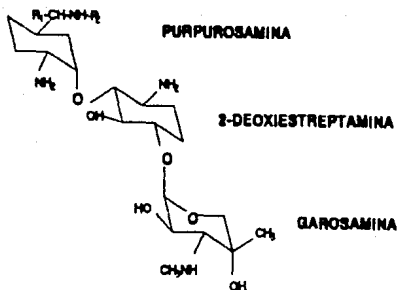
NEOMICINA B



PAROMOMICINA



ESQUEMA No.3

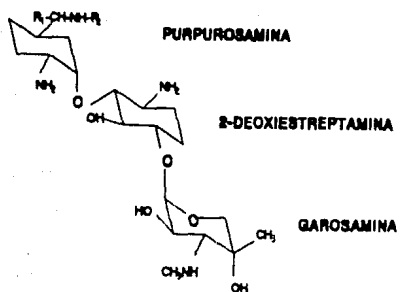


GENTAMICINA C₁
 $R_1=R_2=CH_3$

GENTAMICINA C₂
 $R_1=CH_3, R_2=H$

GENTAMICINA C_{1a}
 $R_1=R_2=H$

ESQUEMA No.4



GENTAMICINA C₁
R₁=R₂=CH₃

GENTAMICINA C₂
R₁=CH₃ R₂=H

GENTAMICINA C_{1a}
R₁=R₂=H

ESQUEMA No.4

ACCION ANTIBACTERIANA DE LOS ANTIOTIOTICOS AMINOGLUCOSIDOS

El espectro antibacteriano de los antibióticos aminoglicosidos es muy semejante para todos ellos, siendo de espectro reducido y de acción predominantemente bactericida.

a) Kanamicina. - su espectro antimicrobiano comprende:

Bacterias Gram (+)

Staphylococcus aureus

Diplococcus Neumoniae (.1 mg/ml)

Bacterias Gram(-)

Neisseria gonorrhoeae

Enterobacter aerogenes

Escherichia coli

Klebsiella pneumoniae

Proteus mirabilis

Proteus vulgaris

y géneros Shigella y Salmonella

Algunos organismos que no son susceptibles a kanamicina son;

Pseudomona aeruginosa

Microorganismos anaerobios, hongos, rickettsias y virus.

b) Neomicina. Actúa sobre:

Bacterias Gram (+)

Staphylococcus aureus

Corynebacterium diphtheriae

Bacillus anthracis

Bacterias Gram (-)

Escherichia coli

Enterobacter aerogenes

Proteus - todo el género

Shigella - todo el género

Bacilos ácido resistentes como el tuberculoso y *Actinomicetos*

Los microorganismos que no son susceptibles a la Neomicina son:

Diplococcus pneumoniae

Pseudomona aeruginosa

Rickettsias

Virus y protozoarios.

c) Gentamicina, el espectro antibacteriano es semejante al de los antibióticos anteriores, aunque algo más amplio:

Bacterias Gram (+)

Staphylococcus aureus

Streptococcus pyogenes

Streptococcus faecalis

Diphtheria Pneumoniae

Bacterias Gram (-)

Enterobacter aerogenes

Escherichia coli

Klebsiella pneumoniae

Proteus vulgaris

Salmonella- todo el género

Shigella- todo el género

Pseudomonas aeruginosa

d) Paromomicina. Algunos microorganismos sensibles a este son:

Bacterias Gram (+)

Staphylococcus aureus

Corynebacterium Diphtheriae

Streptococcus pyogenes

Bacterias Gram (-)

Enterobacter aerogenes

Escherichia coli

Klebsiella Pneumoniae

Salmonella

Shigella

Mycobacterium tuberculosis

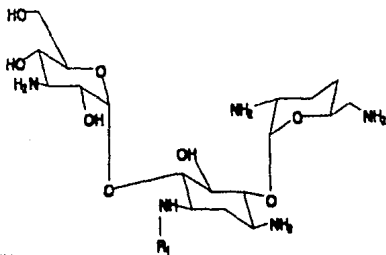
Entamoeba Histolytica

Los antibióticos aminoglucósidos pueden dar lugar a fenómenos de resistencia bacteriana. Dicha resistencia es experimentada en estafilococos y colibacilos y a veces en gérmenes del género proteus y también el bacilo tuberculoso aunque con menor frecuencia que con algunos otros antibióticos. Su mecanismo de acción es el de deprimir y transtornar la síntesis proteica de las bacterias, actuando sobre los ribosomas.

ANTBIOTICOS SEMISINTETICOS

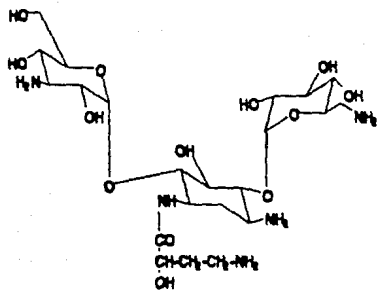
Los antibióticos semisintéticos surgen de los estudios realizados por Peter Woo en 1971⁶¹. Woo aisló el ácido 5-4-amino-2-hidroxibutírico de un antibiótico de origen natural llamado Butirosina, e hizo modificaciones químicas de algunos otros antibióticos sustituyendo el ácido aislado en diferentes posiciones de diversos antibióticos, realizó además las pruebas biológicas que lo condujeron a concluir; " La sustitución de ácido 5-4-amino-2-hidroxibutírico (HABA) en los antibióticos aminogluósidos, preferentemente en la posición del carbono 1, aumenta la capacidad bactericida en kanamicinas, gentamicinas y neomicinas.

Algunos ejemplos de antibióticos semisintéticos son: Habekacina^{13 y 32}, pertenece a la serie de la kanamicina y se obtuvo al sustituir una molécula de HABA en la dibekacina. Esquema 5. Amikacina³¹, antibiótico semisintético obtenido al sustituir una molécula de HABA en el carbono uno de la kanamicina. Esquema 6. 1,2' -HABA- dibekacina B²⁴, se obtuvo al unir en los carbonos 1 y 2' de la dibekacina B el HABA. Esquema 7.

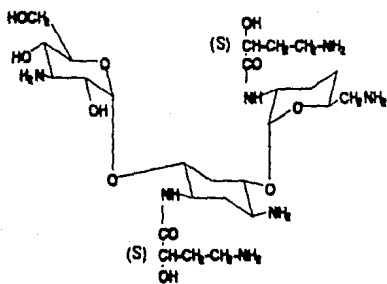


HABEKACINA $R_1 = \text{HABA}$ DIBEKACINA $R_1 = \text{H}$

ESQUEMA No. 5



ESQUEMA No. 6



1,2-HABA-DIBEKACINA B

ESQUEMA No. 7

Todos los antibióticos semisintéticos pertenecientes a la serie de la kanamicina, mostrados anteriormente, han probado ser más activos que la kanamicina^{24,58,31,32} y en la actualidad se estudian biológicamente muchos otros antibióticos semisintéticos pertenecientes algunas otras series, para determinar su acción antibacteriana en diversas dosis y la toxicidad que estos poseen.

Como consecuencia del éxito obtenido por P. Woo⁶¹ en la modificación química de los antibióticos, se generó un gran interés en este campo. Así, en el año de 1973 Kawaguchi, H. *et al.*²¹, patentaron la preparación del 1-S-(-)-4-amino-2-hidroxi-butiril kanamicinas A y B, reduciendo las dosis de 960 µg/kg a 560 µg/Kg, en comparación con las kanamicinas A y B. El método como lo preparo fue el siguiente: El ácido S-(-)-4-amino-2-hidroxitbutírico fue convertido a su N-benciloxi-carbonil derivado y tratado con 6' mono-benciloxicarbonil kanamicina A, para dar el 1-L-(-)-4-benciloxicarbonil kanamicina A, que se trató con AcOH y Pd/C, para dar el 1-L-(-)-4-amino-2-hidroxitbutiril kanamicina A. Los derivados de la kanamicina B son preparados en forma similar.

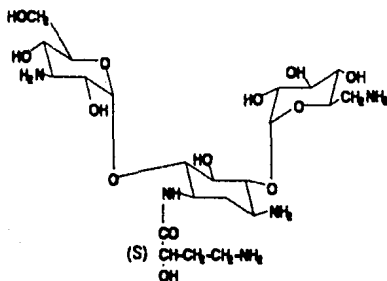
En el año de 1974 Naito, T. *et al.*³⁷, trató a la gentamicina C₂ con el ester del ácido S-γ-benciloxicarbonil amino-ε-hidroxitbutírico-N- hidroxisuccinimide, este reactivo es obtenido tratando el ácido S-(-)-4-amino-2-hidroxitbutírico con: $C_6H_5-CH_2-O-C(=O)-Cl$ en solución acuosa de NaOH seguida de la adición de N-hidroxisuccinimide en AcOEt conteniendo diclohexilcarbo-di-imide, en tetrahidrofurano al 75%, seguida de la hidrogenación con Pd/C y cromatografía de intercambio iónico para obtener la 1-(L-(-)-γ-amino-ε-hidroxitbutiril) gentamicina C₂, probando ser buen bactericida al igual que su monoacetilado y su diacetilado. Por este mismo método Naito³⁶ trató a la gentamicina C_{1B}, para dar el 1-S-γ-amino-ε-hidroxitbutiril gentamicina C_{1B}, que al ser monoacetilada y diacetilada ofrece productos que también poseen actividad bactericida. También obtiene los derivados de la neomicina B, neomicina C, paromomicina y lividmicina B^{35,38,36,61}.

En 1974 Konishi²⁶, patentó los derivados de la gentamicina C₁, éstos se obtuvieron por el método que Naito usó para obtener los derivados de la gentamicina C₂, dichos derivados también

poseen gran actividad bactericida.

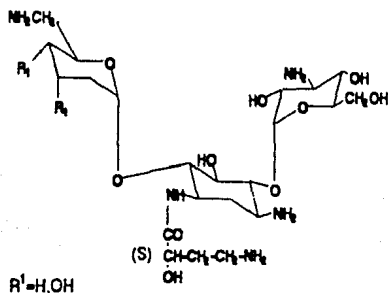
Kondo 1973²⁴, prepara los derivados de la kanamicina B patentando la preparación de la 1-N-(S-4-amino-2-butilil)-kanamicina B (1-HABA-KM-B) y la 3',4'-dideoxikanamicina B (1-HABA-DIBEKACINA B)²³, los cuales no son afectados por la kanamicina-fosfotransferasas I y II ni kanamicina-nucleotransferasas. En el mismo año Kondo^{23 y 24}, informa la caracterización y síntesis de cuatro isómeros posicionales de la 1-N-S-4-amino-2-hidroxitbutiril)-kanamicina B y los derivados 2-diacéticos de la 3',4'-dideoxikanamicina B, de los cuales solo el 1,2'-HABA-dideoxikanamicina B fue activo contra bacterias poco sensibles o resistentes a kanamicina, pero menos activo que el 1-HABA-dideoxikanamicina B.

En 1976 Schreiber⁵⁰, patenta los derivados de la kanamicina A usando agentes bloqueadores del grupo amino, función prioritaria para acilar la kanamicina, estos derivados presentaron mayor actividad bactericida que la 1-HABA-kanamicina sin acilar. Esquema 8



ESQUEMA No. 8

Umezawa^{56,57,58} en 1975 preparó los derivados de la kanamicina B por un método similar al usado por Kondo en la preparación de derivados de la kanamicina A. Esquema 9.



ESQUEMA No. 9

Todos los métodos antes mencionados se hayan bajo patente y han sido de gran importancia en los últimos años debido al gran auge que han tenido los antibióticos semisintéticos. Es importante enfatizar que desde el año de 1983 la amikacina se usa ya a nivel hospitalario, siendo su espectro el más amplio de los del grupo de los aminoglicósidos. Este antibiótico semisintético tiene un papel especial en el tratamiento de infecciones donde prevalecen los microorganismos resistentes a kanamicina, gentamicina etc. Este es solo un ejemplo, pero actualmente se realizan estudios biológicos para la posterior aplicación de los restantes antibióticos semisintéticos, ya que se ha comprobado que la dosis necesarias son menores que las de los aminoglicósidos de origen Natural y por lo tanto los efectos secundarios son menores.

IMPORTANCIA DEL HABA.

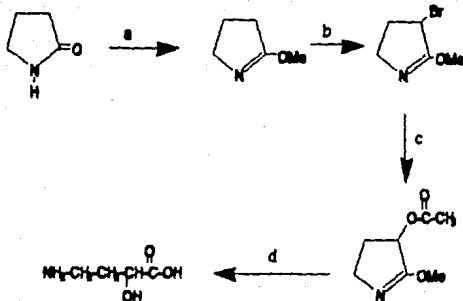
Este compuesto es de gran importancia debido a la versatilidad de sus usos. El HABA se encuentra relacionado con algunos otros campos de la química, como el analítico, en donde puede ser usado como agente complejante¹³ en la determinación de cobalto, cobre y níquel. Las sales de litio del HABA fueron probadas por Gerson¹⁴ como sedantes nerviosos, y su LD₅₀ fue de 1.25 µg/Kg de peso con gran actividad sedativa. También en este campo Karobeth²⁰ hizo un estudio de la relación existente entre el HABA y las benzodiazepinas, (las benzodiazepinas son moléculas sedativas que actúan a nivel de sistema nervioso central) y encontró que el HABA ayuda a la unión de las benzodiazepinas, actuando éste como agente químico para la transmisión de impulsos nerviosos.

Uno de los usos más importantes del HABA es el de unirlo a los antibióticos aminoglucosidos para dar lugar a los antibióticos semisintéticos, sin embargo, también se ha empleado en preparar otro tipo de moléculas por ejemplo: en la síntesis de pirrolidinas, en la síntesis de feromonas y en la preparación de eritadreninas (sustancias aisladas de Lentinus edodes que presentan acción hipocolesterolemica, es decir no permiten la acumulación de colesterol).

METODOS DE SINTESIS

Debido al creciente uso del HABA, se buscaron métodos para sintetizarlo ya que resultaba complicado el extraerlo de la butirosina. (Es importante señalar que el isomero (S) es el único capaz de incrementar la capacidad bactericida de los antibióticos aminoglucósidos). Algunas de estas síntesis se muestran enseguida: en 1971 P. Wood⁶¹, sintetizó el ácido S-4-amino-2-hidroxitubérico, a través de la desaminación parcial del ácido L-(+)-2,4,-diamino- butírico, al realizar estudios para elucidar la configuración absoluta del HABA que encontró en la butirosina. H. Sato⁴⁹ et al. en 1975 informó la síntesis de una mezcla de los isómeros S y R del HABA, a partir de acrilato de metilo y el éster etílico del nitrometano. Miyaki³³, logra la resolución de la mezcla de ambos usando cultivos de Aerobacter ATCC, bajo condiciones aeróbicas, empleando como fuente de carbono la muestra racémica. El microorganismo únicamente degradó el isomero R dejando al isomero S en forma pura.

Netto⁴⁰ preparó el ácido S-4-amino-2-hidroxitubérico por reacción del ácido S-glutámico con amoníaco, trató el ácido resultante con ácido nítrico y luego lo reflujoó con ácido nítrico y sulfúrico. En 1975 Park⁴⁴, encontró el HABA como producto en experimentos de evolución química, en donde a partir de metano, amoníaco, agua y una descarga eléctrica se forman varias moléculas orgánicas entre las que encontró al HABA. En 1976 Yasuhiro, propuso la transformación de la 2- pirrolidina al ácido DL -4-amino-2-hidroxi-butírico por la siguiente vía:



- a) Sulfato de dimetilo.
- b) N-bromosuccinimida.
- c) refujo con tres equivalentes de $\text{CH}_3\text{-COOK}$ en acetonitrilo.
- d) Hidrólisis con HCl

Goel en 1985¹⁵, partió de la 2-bromo-butyrolactona, e hidrolizó a la 2-hidroxi- γ -butyrolactona, que es abierta con la ftalimida potásica en dimetil formamido y removió el grupo ftalimido por reflujo en solución etanólica con fenil hidrazina y tri-n-butilamina.

El método sintético usado en este trabajo⁴⁰ fue a partir de S-glutamato monosódico, desaminando con ácido nítrico para formar la γ -carboxi- γ -butyrolactona, la reacción ocurrió con total retención de configuración, la apertura se realizó a baja temperatura con solución de hidróxido de amonio para obtener el ácido S-2-hidroxi-glutarámico, que se purificó mediante resinas de intercambio iónico, posteriormente se le realizó una degradación de Hoffmann en medio básico con hipoclorito de sodio preparado *in situ* donde se purificó con resinas de intercambio iónico para obtener el HABA.

IMPORTANCIA DE LOS INTERMEDIARIOS DE LA SINTESIS DE HABA A PARTIR DE S-GLUTAMATO MONOSODICO.

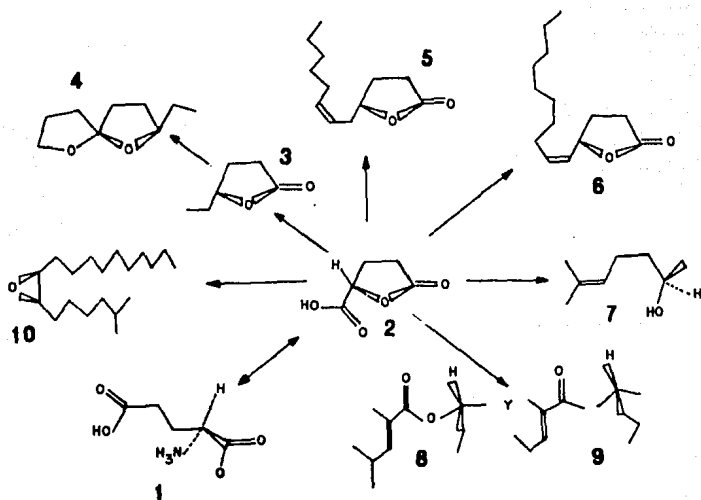
En años recientes el campo de la ecología química, (estudio de interacciones mediadas químicamente entre o dentro de las especies), se ha convertido en un área de creciente interés científico ya que ha demostrado ser de gran aplicación y utilidad, como por ejemplo el estudio de las feromonas (moléculas orgánicas que sirven para la comunicación de miembros de una especie en particular). El estudio de las feromonas es cada vez más extenso ya que al conocer y sintetizar estas moléculas se puede tener control sobre las especies en estudio tanto benéficas como perjudiciales para el hombre. Las observaciones más amplias, se han realizado con feromonas de insectos, pero actualmente se investiga este tipo de interacciones en animales superiores.²⁸

El desarrollo de estos estudios provoca la vinculación entre el comportamiento biológico y la química orgánica, generando inquietudes en ambas ramas de la ciencia, por una parte el saber: ¿Cómo se comunican dichas especies?, ¿A qué tipo de comportamiento corresponde cada molécula?, ¿Los insectos son capaces de diferenciar moléculas isoméricas?, ¿Cuál es la proporción adecuada de la mezcla? y por otra parte si la molécula a la cual corresponden, se haya en forma pura ¿Cuál es el isómero específico?

Algunas revelaciones importante de los últimos años fueron, en primer lugar el comprender la importancia de mezclas particulares en la comunicación de algunas de las especies, teniendo en cuenta la susceptibilidad de algunas de éstas por un isómero en particular. Por lo que el paso final en el establecimiento de estructuras feromonales sintéticas son los bioensayos sobre las especies en estudio. Ahora bien, la síntesis de feromonas con actividad óptica determinada, es ya un prerrequisito importante para encontrar la respuesta a algunas de estas interrogantes, realizando bioensayos sobre las especies con diferentes proporciones de cada enantiómero. Es aquí donde la síntesis de precursores con actividad óptica se hace indispensable, no sólo para la síntesis de feromonas, sino para obtener muchos otros compuestos con actividad óptica, que

generalmente resultan de interés biológico, por la naturaleza del metabolismo humano en el que participan moléculas con actividad óptica con función específica.

Un ejemplo de intermediarios con actividad óptica definida y estereoquímica conocida es la γ -carboxi- γ -butirolactona² intermediario que se ha utilizado para lograr síntesis estereoselectivas³ de muchas feromonas y otras moléculas. Esta lactona se prepara a partir de glutamato monosódico, mediante la deaminación con ácido nitroso^{59,60}, reacción que procede con total retención de configuración y alto rendimiento (Esquema 10). Este intermediario se usó en la síntesis que este trabajo presenta⁴⁰ y su obtención será detallada en la parte experimental y en la discusión. El glutamato monosódico (1) se ha empleado en forma muy variada en la preparación de feromonas quirales²⁸, usando como intermediario la γ -carboxi- γ -butirolactona. Esquema 10.



ESQUEMA 10

- 1) Glutamato monosódico.
- 2) γ -carboxi- γ -butirolactona.
- 3) γ -caprolactama.
- 4) S-2-etil-1,6-dioxaspiro-(4,4)-nonano.
- 5) Z-6-dodecen-4-olida.
- 6) Z-6-tetradecen-4-olida.
- 7) Sulcatol.
- 8) E-2,4-dimetil-2-pentanoato.
- 9) E-2-metil-2-pentanoato.
- 10) Cis 7,8 epoxi-2-metil-octadecano.

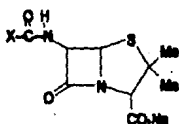
ESQUEMA 10

Una de las ventajas que ofrece la γ -carboxi- γ -butirolactona, es que se pueden preparar los enantiómeros (S) o (R) en forma pura a partir de glutamato monosódico (S) o (R) respectivamente⁵², ya que es una reacción que procede con retención de configuración, lo cual facilite la asignación de ésta a los materiales obtenidos mediante alguna de las lactonas. La síntesis de feromonas mostradas en el esquema 10, fueron publicadas por: Ebert, L.B. et al. 1974¹¹; Mori, K. 1975⁷⁴; Uzi Ravid, R. et al. 1978⁵⁹; Leverett, R.S. et al. 1979²⁸; Doolittle, R.E. 1980¹⁰; Takaiwa, A. et al. 1984⁵². Estos autores logran su síntesis de feromonas a partir de la γ -carboxi- γ -butirolactona.

Dichas moléculas con actividad feromonal fueron sintetizadas en forma pura para realizar bioensayos y corroborar la relación de actividad biológica con la configuración absoluta de cada una de estas moléculas. Sin embargo, a pesar de ser la preparación de feromonas uno de sus usos más amplios e importantes, también es un intermediario para la síntesis de D-ribose, siendo dicha preparación, la primer síntesis de ésta a partir de materiales con actividad óptica que no pertenecen a la familia de los carbohidratos, usando el centro asimétrico de la γ -lactona.

Este intermediario también ha tenido un amplio uso en la síntesis de derivados 6- acílicos del

ácido aminopenicilánico. En ésta síntesis se esterificó con $C_6H_5-CH_2-Cl$ al (R) Me-2-CH-
 $CH_2-CH(OH)-COOH$, que posteriormente fue o-acilado con la γ -carboxi- γ -butirolactona y dió el
 (R)-bencil-2-(2-furoiloxi) isocaproato, el cual se hidrolizó y trató con $SOCl_2$, seguido del
 ácido aminopenicilánico, para dar el (R)-1-(2-furoiloxi)-3-metilbutil-6-
 aminopenicilánico¹³. Esquema 11



X1= (R)-1-(2-furoiloxi)-3-metilbutil.

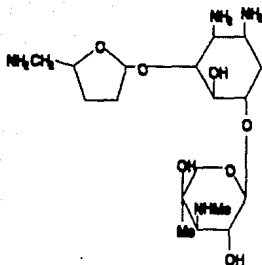
X2= (RS)-1-(5-bromo-2-furoiloxi)-3-metilbutil

X3= (S)-1-(2-furoiloxi)-3-metilbutil

X4= (R)-1- pirimidinilcarboniloxi-3-metilbutil.

ESQUEMA No. 11

Los derivados del ácido penicilánico han resultado eficaces contra *Staphylococcus aureus* y
Escherichia coli. La γ -carboxi- γ -butirolactona, no sólo es usada para la manufactura de este
 tipo de bactericidas, sino también para la síntesis del 4-O-(2,3,5-tridioxi-5-amino- α -D-
 pentofurasonil) 6-O-amino-glicosil-1,3-diamino ciclotales y sus 1-N-(S- β -amino- α -
 hidroxipropanil) derivados usados como bactericidas y patentados por Mc. Combie, S. 1980.30y31
 Esquema 12.

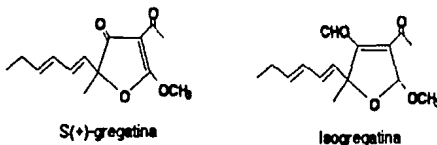


ESQUEMA No.12

Algunas otras aplicaciones de la γ -carboxi- γ -butirolactona, fueron patentadas por la Sociedad Química de Francia, la cual patentó una formulación contra la intoxicación amoniacal a partir de arginina y γ -butirolactona. Otro interesante uso es el patentado por Sugiyama K. 1974, que utiliza la γ -lactona como agente humectante en formulaciones cosméticas.

En lo referente a síntesis es un reactivo muy versátil, ha sido usado como precursor de: L-hidroxiprolina por Eguchi C. 1974¹² preparada por desaminación de ácido glutámico e hidrólisis de la α -cloro- γ -cloro,metil- γ -butirolactona, epóxitepenos con actividad óptica como el (R)-epoxigeroneol, también sirvió para preparar 10 ésteres del mentol¹⁸ usados como agentes aromatizantes y para la preparación de gregatinas² (metabolitos fitotóxicos aislados de *Cochlosporium gregatum* y *Aspergillus panamensis*, que se usan como fungicidas y bactericidas).

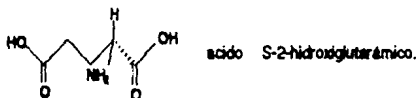
Esquema 13.



ESQUEMA No.13

La γ -carboxi- γ -butirolactona se ha encontrado incluso como componente del humo del cigarrillo y fue preparada a finales de los años 60's⁵¹. Uno de los métodos de síntesis es el que presenta Nikishin, O.I. 1972⁴². La produjo por oxidación monofuncional de derivados del tetrahidrofurano. Otro método es el de Taniguchi 1972⁵⁴, este consiste en la deaminación del ácido glutámico con ácido nitroso (HNO). Sobre este synton se tienen varios estudios de sus propiedades químicas, espectroscópicas, químicas y físicas, reportados por Cervinka, O. 1972^{7A}; Pirillo D. 1984⁴⁵; Thomas, H. G. 1983⁵⁴

Otro de los intermediarios de la síntesis expuesta en este trabajo es el ácido S(-)-2-hidroxiglutarámico (Esquema 14)



ESQUEMA 14

Este intermediario es sintetizado por medio de la apertura de la γ -carboxi- γ -butirolactona con NH_4OH . Este intermediario tiene usos muy restringidos ya que no ha sido estudiado, se usa como acondicionador del tejido epitelial, auxiliar en el acné y en pruritis. Aún cuando este intermediario no es de gran importancia para la industria, resulta de gran utilidad en este trabajo, ya que mediante éste, se obtiene el HABA. Si tomamos en cuenta los importantes usos de los intermediarios, sobre todo de la γ -lactona, podemos decir que la síntesis presentada en este trabajo es importante no tan solo por caracterizar y obtener el HABA a nivel de laboratorio, sino también por el haber obtenido la capacidad para preparar intermediarios muy útiles. Esta preparación también involucra el manejo de resinas de intercambio iónico (R.I.I.) usando la técnica en columna. Los usos y la teoría de esta técnica resultan tan amplios e interesantes que vale la pena mencionar algo sobre ella.

CROMATOGRAFIA DE INTERCAMBIO IONICO

Las separaciones mediante la técnica de intercambio iónico se llevan a cabo mediante materiales especiales de estructura porosa e insoluble. Estos contienen iones reactivos que están asociados a iones lábiles, capaces de intercambiarlos con el medio que los rodea. Este es el único fenómeno que ocurre en el material durante todo el proceso, que invariablemente tiene lugar en medio líquido (generalmente acuoso).

Como su nombre lo indica la cromatografía de intercambio iónico se emplea en la separación de sustancias iónicas tanto orgánicas como inorgánicas de polielectrolitos, como enzimas, hormonas, virus, ácidos nucleicos y otras sustancias biológicamente importantes.

Generalmente se emplean tres tipos de materiales; resinas, geles y celulosa de intercambio iónico. La diferencia entre ellos se debe a los grupos cambiadores y principalmente a la microestructura. De entre estos materiales, nuestra atención se enfocará a las resinas de intercambio iónico.

La resina es generalmente un polímero de enlaces entrecruzados de poliestireno o de polimetacrilato (menos común). Durante la polimerización del estireno, se agregan pequeñas cantidades de divinilbenceno, para entrecruzar las ligaduras de las cadenas poliméricas. La proporción de enlaces entrecruzados, puede causar bloqueo estérico de los grupos de intercambio iónico, lo cual es muy importante porque determina la insolubilidad de la resina, la magnitud de expansión cuando la resina entra en contacto con el agua, así como su capacidad para el intercambio iónico; temas de los que se hará mención más adelante. Una vez hecho el polímero con enlaces entrecruzados, se introducen los grupos de intercambio iónico en la resina, siendo los más comunes los enlazados a continuación, en donde se especifica el grupo iónico que posee, tipo de resina y tipo de polímero, en la siguiente tabla (No. 1)

NOMBRE	TIPO DE RESINA	GRUPO FUNCIONAL	TIPO DE RESINA POLIMERICA
AMBERLITA IRA-400	FUERTEMEN TE BASICA	$-\text{CH}_2\text{-N}^+(\text{CH}_3)_3$	POLUESTIRENO DE ENLACES TRANSVERSOS
AMBERLITA IR-45	DEBILMENTE BASICA	$-\text{CH}_2\text{-N}-(\text{C}_3\text{H}_7)_2$	POLESTIRENO DE ENLACES TRANSVERSOS
DE ACIDETE FF	FUERTEMEN TE BASICA	$-\text{CH}_2\text{-N}^+(\text{CH}_3)_3$	POLUESTIRENO DE ENLACES TRANSVERSOS
DE ACIDETE Q	DEBILMENTE BASICA	$-\text{CH}_2\text{-N}-(\text{C}_2\text{H}_5)_2$	POLIOESTIRENO DE ENLACES TRANSVERSOS
DE ACITE H	DEBILMENTE BASICA	$-\text{CH}_2\text{-N}^+(\text{CH}_3)_3$ Y $-\text{CH}_2\text{-N}-(\text{C}_3\text{H}_7)_2$	POLUESTIRENO DE ENLACES TRANSVERSOS
DOWEX 1	FUERTEMEN TE BASICA	TRIMETILBENCIL- AMINO	POLUESTIRENO DE ENLACES TRANSVERSOS
DOWEX 2	FUERTEMEN TE BASICA	DIMETIL-ETANOL- BENCIL-AMONIO	POLUESTIRENO DE ENLACES TRANSVERSOS
AMBERLITA IR-120	FUERTEMEN TE ACIDA	$-\text{SO}_3\text{H}$	POLUESTIRENO DE ENLACES TRANSVERSOS
AMBERLITA IRC-50	DEBILMENTE ACIDA	$-\text{COOH}$	ACIDO POLIMETACRILICO DE ENLACES TRANSVERSOS
DOWEX 50	FUERTEMEN TE ACIDA	$-\text{SO}_3\text{H}$	POLUESTIRENO DE ENLACES TRANSVERSOS
ZEO KARB 225	FUERTEMEN TE ACIDA	$-\text{SO}_3\text{H}$	POLUESTIRENO DE ENLACES TRANSVERSOS
ZEO,KARB 226	DEBILMENTE ACIDA	$-\text{COOH}$	ACIDO POLIMETACRILICO DE ENLACES TRANSVERSOS

TABLA No. 1

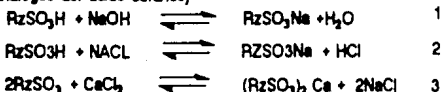
TIPO DE REACCIONES DE LAS RESINAS DE INTERCAMBIO IÓNICO

Son cuatro los tipos de resinas de intercambio iónico sintéticas disponibles, cada tipo es esencialmente análogo a un ácido o base común y dan reacciones similares a estos reactivos. La diferencia primaria radica en que los materiales de intercambio iónico son insolubles y remueben constituyentes de una solución por la formación de la sal de la resina también insoluble, la resina es insoluble, pero los constituyentes de la solución así como sus formas ácidas y sus formas básicas son solubles en agua.

Estos cuatro tipos de resinas y sus reacciones típicas son listados a continuación:

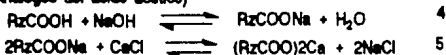
RESINAS DE INTERCAMBIO CATIONICO FUERTEMENTE ACIDAS

(Análogos del ácido sulfúrico)



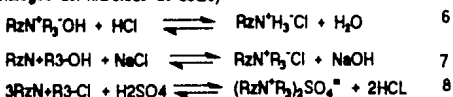
RESINAS DE INTERCAMBIO CATIONICO DEBILMENTE ACIDAS.

(Análogos del ácido acético)



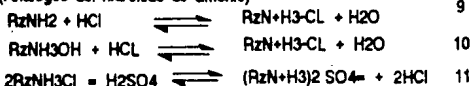
RESINAS DE INTERCAMBIO ANIONICO FUERTEMENTE BASICAS

(Análogos del hidróxido de sodio)



RESINAS DE INTERCAMBIO ANIONICO DEBILMENTE BASICAS

(Análogos del hidróxido de amonio)



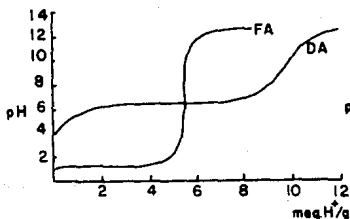
Nota: Rz = fracción copolimérica de poliestireno enlaces transversos.

Las reacciones 2 y 7 representan las propiedades de separación de sales con resinas de intercambio iónico fuertemente ácidas y fuertemente básicas.

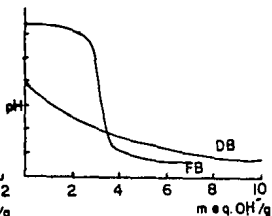
Las resinas de intercambio iónico debilmente ácidas y debilmente básicas no proporcionan estas reacciones, ni ellas removerán bases extremadamente débiles, ni ácidos extremadamente débiles.

En el esquema No.17, se muestran las curvas de titulación de cada uno de los cuatro tipos fundamentales de las resinas de intercambio iónico, y pueden ser de ayuda en la elección de la correcta resina de intercambio iónico para algunas aplicaciones dadas.

RESINAS DE INTERCAMBIO CATIONICO



RESINAS DE INTERCAMBIO ANIONICO



ESQUEMA 14

SELECCION DE LA CORRECTA RESINA DE INTERCAMBIO IONICO.

Para seleccionar la correcta resina de intercambio iónico, es necesario aclarar los siguientes puntos:

- 1) Funcionalidad requerida
- 2) Grado de intercambio
- 3) Tamaño de la partícula
- 4) Nivel de cross-linker o grado de entrecruzamiento de las cadenas copoliméricas.

FUNCIONALIDAD IONICA (1)

La funcionalidad iónica apropiada de la resina a emplear depende de la naturaleza del sistema a separar, purificar, desionizar, etc.

Muy frecuentemente las resinas de intercambio iónico (catiónicas y aniónicas), pueden ser empleadas para adsorber o separar prácticamente todas las especies iónicas, debido a que estas son las especies más fuertemente disociantes. Sin embargo, en casos donde la estabilidad de productos puede ser afectada, sobre todo en materiales de naturaleza biológica, es preferible usar resinas de disociación débil de poliamino o de funcionalidad carboxílica. En caso de elegir resinas de intercambio aniónico, la temperatura de operación puede ser un factor decisivo

POROSIDAD Y NIVELES DE CADENAS ENTRECruzADAS DE LA MATRIZ COPOLIMÉRICA DE LAS RESINAS DE INTERCAMBIO IÓNICO (2,3,4)

En general las resinas de intercambio iónico con bajo nivel de cadenas entrecruzadas en la matriz copolimérica son capaces de imbibirse o de absorber grandes cantidades de agua, cuando estas son hidratadas. Tales resinas tienden a tener alta porosidad, enfatizándose que ésta es en fase gel y es independiente de alguna porosidad fija. Una alta porosidad en fase gel (bajo nivel de cadenas entrecruzadas), normalmente tendrá una difusión más rápida de iones dentro y fuera del gel, distinción que es más fuerte cuando el adsorbato es un ión complejo o una molécula grande.

Resinas de baja porosidad en fase gel (alto nivel de cadenas entrecruzadas), tienen baja capacidad para poseer humedad y serán más capaces de excluir moléculas grandes y son mucho más limitadas cinéticamente que las resinas de alta porosidad y bajo nivel de cadenas entrecruzadas.

Esto tendrá un efecto sobre la selectividad de la resina para varios solutos iónicos. Las resinas de intercambio iónico con alto nivel de cadenas entrecruzadas, darán como resultado altos grados de selectividad. La presencia de porosidades fijas como en la amberlita macrorreticular tiene un efecto sobre la cinética de adsorción y elución aparte de las consideraciones de la porosidad en fase gel descritas arriba.

Cuando la fase gel de algunas resinas tiene agua imbibida, las cadenas poliméricas regresan a su arreglo original en condiciones de deshidratación en las cuales están firmemente empaquetados, reduciendo así la accesibilidad de los sitios funcionales.

Una resina de intercambio iónico con alta porosidad fija, será menos dependiente de la hidratación de la matriz, debido a que el eluato puede pasar através de estos poros, acortando la vía de difusión, por lo que será más usada en condiciones anhidras, comparada con una resina de baja porosidad fija.

Separaciones difíciles, tales como las de los iones de carga similar, son separados usando técnicas cromatográficas.

Los procesos con resinas de intercambio iónico se llevan a cabo mediante dos técnicas; por

lote o en columna, dependiendo de la aplicación en cuestión. En operaciones donde es necesario un intercambio, iónico cuantitativo, el método más apropiado es la técnica en columna, ya que esta puede verse como una serie de sistemas en equilibrio, muy semejantes a los platos teóricos de la teoría de destilación. Este es el método más usado a nivel laboratorio y será del que hablaremos con mayor detalle.

Los usos más frecuentes descritos en la literatura son cuatro y se basan en las transformaciones de las especies iónicas, o en el reemplazo de un ión por otro, proceso llamado interconversión. Uno de los más notables procesos de interconversión es el ablandamiento de aguas, en donde calcio, magnesio y algunos iones divalentes son reemplazados por sodio, usando resinas de intercambio iónico fuertemente ácidas.

USO DE LAS RESINAS DE INTERCAMBIO IONICO

1.- CONCENTRACION.

Muchos métodos analíticos valiosos involucran preconcentración de soluciones que contienen niveles muy bajos de iones específicos. Como primera etapa es preferible usar resinas de intercambio iónico, adsorbiendo las soluciones sobre éstas y eluyendo después los iones en forma más concentrada, con menor volumen de disolvente.

Otro ejemplo del uso de resinas en operaciones de concentración, es el tratamiento de desechos radioactivos, donde las resinas de intercambio iónico son usadas, para concentrar los elementos radioactivos, acoplando esta operación al método de recuperación. También ha sido usado este método para recuperar iones de oro, plata, cobre, cromo y uranio.

II. PURIFICACION Y DESIONIZACION

Al usar la forma ácida de la resina de intercambio catiónico fuertemente ácida y la forma básica de la resina de intercambio catiónico fuertemente básica sobre una solución, se efectúa una remoción de todos los iones de ésta, logrando obtener soluciones totalmente desionizadas.

Proceso que se ha convertido en una importante herramienta para una gran cantidad de procesos industriales, como en la manufactura de licores, en la purificación de ácido clorhídrico,

(el cual se le elimina el ácido fórmico, formaldehído y fierro.) y en la preparaci3n de agua desionizada, para usarla a nivel industrial, lo cual no sería posible si se obtuviera por métodos más costosos como la destilación.

III. CATALISIS

Algunas reacciones orgánicas son catalizadas por ácidos o bases fuertes y muchas veces esto se realiza con resinas catalizadoras, las cuales presentan ventajas y desventajas en catálisis homogéneas, algunas de ellas se mencionan enseguida:

- 1.- La resina puede ser removida de la mezcla de reacción por una simple filtración.
- 2.- La resina puede ser instalada en reactores a través de los cuales la mezcla de reacción es pasada por un proceso continuo
- 3.- Los problemas de elevada corrosión por el uso de catalizadores homogéneos, puede ser reducida por medio de resinas catalizadoras.

Otros procesos en los cuales las resinas de intercambio iónico catalizadoras han sido estudiadas incluyen hidraciones de olefinas, formación de ésteres, formación de acetales, condensaciones aldólicas y formación de azúcar invertida (proceso industrial acoplado a resinas de intercambio iónico catalizadoras).

Las resinas de intercambio iónico tipo gel son convencionalmente usadas en sistemas acuosos donde es factible hinchar la estructura de gel, permitiendo que los reactantes se difundan a los sitios ácidos o básicos. En contraposición las resinas macrorreticulares con porosidad dentro de la matriz copolimérica, son particularmente usadas para catálisis exclusivamente en soluciones no acuosas.

IV SEPARACION.

La separación mediante intercambio iónico es usada para separar mezclas iónicas en donde pueden existir pequeñas diferencias en selectividad, separando mezclas iónicas gracias al tamaño molecular o a las diferencias entre los límites de ionización de las especies. Por ejemplo especies iónicas grandes tales como los derivados del ácido sulfónico pueden ser separados de especies pequeñas afines a ácidos minerales, sobre resinas de intercambio iónico, que remueven preferencialmente los ácidos minerales

Los métodos generales para separación involucran adsorción y elución cromatográfica. La adsorción cromatográfica generalmente se usa para la separación de solutos los cuales exhiben diferencias razonables en la selectividad para una resina dada, tal como la separación de iones divalentes. Especies iónicas más estrechamente relacionadas, son muchas veces separadas por elución cromatográfica en la cual es usado un agente eluyente seleccionado para desadsorber diversas especies adsorbidas. Otras es usado un gradiente de elución que consiste en incrementar progresivamente la concentración del agente eluyente, para separaciones que por otras técnicas resultan muy difíciles, estas incluyen la separación de aminoácidos, y de tierras raras. En este último caso pequeñas diferencias en selectividad pueden ser mejoradas por el uso de agentes complejantes.

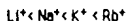
REGLAS DE SELECTIVIDAD DE LAS RESINAS DE INTERCAMBIO IÓNICO

Para ayudar a comprender el patrón de selectividad relativa de las resinas de intercambio iónico, se han establecido las siguientes reglas empíricas, pero no pueden ser interpretadas estrictamente para todos los casos.

1.- A bajas concentraciones acuosas, temperatura ordinaria y valencia constante, el potencial de intercambio se incrementa con el incremento de la valencia del ión que se va a intercambiar.



2.- A bajas concentraciones acuosas, temperatura ordinaria y valencia constante, el potencial de intercambio iónico se incrementa con el incremento del número atómico.



3.- A altas concentraciones la diferencia en potencial de intercambio iónico con iones de diferente valencia disminuye, y en algunos casos el ión de baja valencia tiene un mayor potencial de intercambio iónico.

de intercambio iónico.



4.- A altas temperaturas o en medio acuoso, o a altas concentraciones el potencial de intercambio iónico de aniones o cationes de valencia similar, no se incrementa al aumentar el número atómico.

5.- Los potenciales de intercambio iónico pueden ser aproximados a sus coeficientes de actividad (γ), un alto coeficiente de actividad es un gran potencial de intercambio iónico o viceversa.

6.- El potencial de ionización de los iones H^{+} o de los iones OH^{-} , depende de la fuerza del ácido o de la base formado entre el grupo funcional de la resina y el ión H^{+} y el ión OH^{-} . Para ácidos o bases fuertes el potencial de intercambio iónico es bajo.

7.- Los iones orgánicos de alto peso molecular y complejos aniónicos metálicos exhiben inusualmente un gran potencial de intercambio iónico.

TABLA II

Coefficiente de selectividad relativa de las resinas de intercambio iónico fuertemente ácidas

CATION	% DE DIVINIL BENCENO.		
	4%	8%	10%
Li	1.00	1.00	1.00
H	1.30	1.00	1.45
Na	1.49	1.88	1.45
NH ₄	1.75	2.22	3.07
K	2.09	2.63	4.15
Rb	2.22	2.89	4.19
Cs	2.37	2.91	4.15
Ag	4.00	7.36	19.40
Tl	5.20	9.66	22.20

8 - Cuando el grado de entrecruzamiento de las cadenas o la concentración fija de algunos

iones intercambiados se disminuye, el equilibrio de intercambio iónico o coeficiente de selectividad se aproxima a la unidad.

TABLA III

Coeficiente de selectividad relativa de la resina de intercambio aniónico fuertemente básicas.

ANION	COEFICIENTE
F ⁻	0.09
OH ⁻	0.09
Cl ⁻	1.00
Br ⁻	2.80
NO ₃ ⁻	3.80
I ⁻	8.70
CIO ₄	10.00

CROMATOGRAFIA EN COLUMNA CON RESINAS DE INTERCAMBIO IONICO

Preparación de la columna.

Los pasos que deben seguirse para usar resinas de intercambio iónico en columna son los siguientes.

- 1.- Cargar la columna
- 2.- Llevar a contracorriente.
- 3.- Ajustar el nivel del líquido y medir el volumen ocupado por la resina.
- 4.- Introducir la muestra y eluir
- 5.- Regenerar
- 6.- Lavar hasta quitar exceso de regenerante.
- 7.- Volver a usar la resina.

Los intervalos de flujo normalmente usados son los siguientes:

Etapas de exhaustión o de adsorción, se usa de 0.1 a 0.2 BV*/min. *BV=volumen de resina.

Etapas de contralavado, el volumen empleado es opcional dependiendo de las necesidades.

Etapas de regeneración, el rango empleado es de 0.05 a 0.1 Bv²/min

Etapas de lavado, el rango empleado es igual que en la etapa de regeneración.

Concentración de las soluciones

Etapas de exhaustión. La concentración adecuada es un poco menos de 0.1N, para intercambios cuantitativos, a menos que la alta concentración de la solución no pueda ser tolerada o donde la remoción cuantitativa no es necesaria.

Etapas de contralavado. Usar agua destilada para experimentos analíticos.

Etapas de regeneración. La concentración utilizada, deberá ser alrededor de 1.0 N y de 4-10% P/V (peso /volumen)

Volumenes de las soluciones.

Etapas de exhaustión. Para intercambios cuantitativos se deberá usar una cantidad de solución, la cual contenga iones equivalentes para la mitad de la capacidad de la resina ya medida en la columna.

Etapas de contralavado. Usar tanto como sea necesario, para recomodar la resina.

Etapas de lavado. Usar suficiente para lavar el exceso de regenerante de la columna (usualmente 10 Bv de agua desionizada), el lavado puede chequearse químicamente para garantizar que es completo.

Acondicionamiento de la resina de intercambio iónico.

Si la resina está en la forma iónica apropiada, el acondicionamiento de la resina únicamente consta de un lavado con agua destilada para remover materiales que pueden haberse adquirido durante el tiempo de almacenamiento, y para evitar que la resina se sedimente estratificadamente, es decir que la resina de intercambio iónico se sedimente sin observar diferentes capas, sino una sola, el lavado debe realizarse hasta obtener el pH adecuado para cada caso.

En algunas ocasiones la resina de intercambio iónico no está en el estado iónico apropiado, por lo que el acondicionamiento se agrega una etapa de regeneración

Después de la elución de la columna y para volver a usar la resina con su respectivo

regenerante en concentración del 4-10%, el tiempo de contacto debe ser adecuado (ver tiempos de flujo).

NIVELES DE REGENERACION SUGERIDOS

TABLA IV

RESINAS DE I.I.	FORMA IONICA	REACTIVO	REQUERIMIENTO maq reg/maq res	
Fuertemente ácido	Catiónico	H ⁺	HCl	3 - 5
			H ₂ SO ₄	
Debilmente ácido	Catiónico	Na ⁺	NaCl	3 - 5
		H ⁺	HCl	1.5 - 2
Fuertemente básico	Aniónico		H ₂ SO ₄	
		Na ⁺	NaOH	1.5 - 2
Debilmente básico	Aniónico	OH ⁻	NaOH	4 - 5
		Cl ⁻	NaCl	4 - 5
Tipo I	SO ₄ ²⁻		HCl	
		Na ₂ SO ₄		4 - 5
Tipo II	OH ⁻		H ₂ SO ₄	
		NaOH		3 - 4
Debilmente básico	Base libre	NaOH		1.5 - 2
		NH ₄ OH		
		Na ₂ CO ₃		
	Cl ⁻	HCl		1.5 - 2
	SO ₄ ²⁻	H ₂ SO ₄		1.5 - 2

VOLUMEN CORRECTO DE REGENERANTE

Bv. de regenerante = $\frac{\text{vol. de res.} \cdot \text{capacidad de res.} \cdot \text{requerimiento}}{\text{normalidad del regenerante}}$

normalidad del regenerante

El tipo de regenerante (HCl o NaOH) se determina en la tabla anterior para varios tipos de

resinas de intercambio iónico y su determinada forma iónica.

El volumen de la capacidad de la resina puede expresarse en meq/ml de resina o en algunos otros términos equivalentes

Es recomendable usar agua desionizada y reactivos O.P. especialmente en resinas aniónicas fuertes, ya que son afines a los carbonatos presentes en la sosa impura.

Se debe usar el ácido apropiado por que se puede convertir la resina de intercambio aniónico en una débilmente básica o sea que pasa de la forma de base libre a la forma de sal, usando la base apropiada puede regenerarse una resina catiónica débilmente ácida de la forma H^+ a la forma de sal. (ver reacciones de la pag. 31)

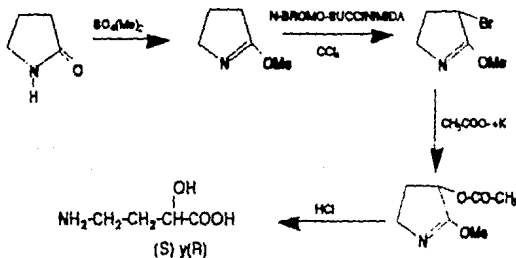
El uso de hidróxido de amonio para la regeneración de la resina de intercambio aniónico débilmente básica a la forma de base libre es una ventaja por que el exceso es usualmente removido por los lavados como en el caso de la sosa.

Este resumen fue realizado con la finalidad de afianzar algunos términos usados en esta técnica, así como de conocer los tipos de reacciones involucradas e identificar en especial la de Amberlite IR-120, que se uso en la etapa de purificación del producto de síntesis, así como de uno de sus intermediarios, que es el motivo de esta tesis.

DISCUSION Y RESULTADOS.

Existen diversos métodos de preparación del ácido S-4-amino-2-hidroxi-butírico, entre los que se destacan los siguientes:

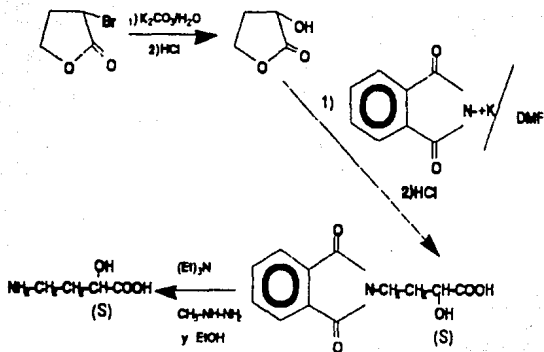
Y. Yamada (1976)⁶², obtiene la mezcla racémica del aminoácido mediante la hidrólisis de la 3-acetoxi-2-metoxi-pirrolidina (ver esquema No.15), preparada a partir de la 2-pirrolidina, según se muestra.



ESQUEMA 15

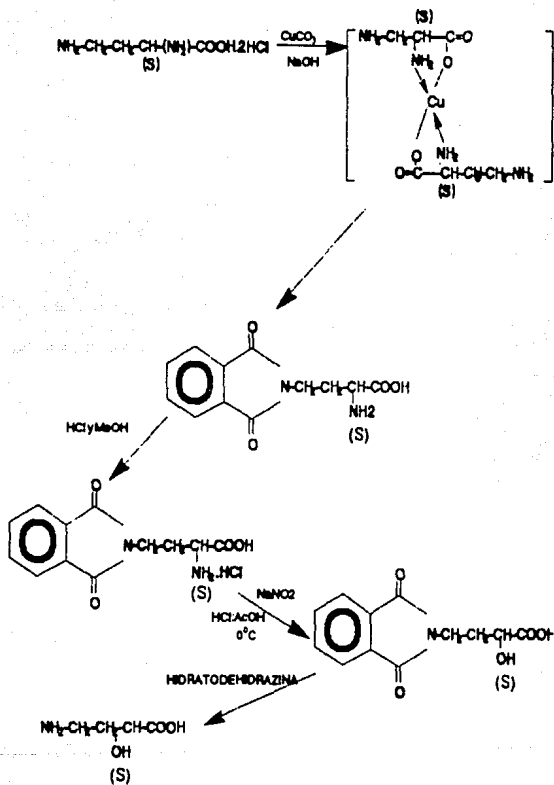
La mezcla racémica obtenida de la hidrólisis, se resolvió químicamente y se obtuvo 19% del S-4-amino-2-hidroxi-butírico (HABA).

En años recientes O.P. Oel (1985)¹⁵, sintetizó esta molécula estereoselectivamente usando como material de partida la 2-bromo-γ-butirolactona, según el esquema No. 16



ESQUEMA 16

Uno de los primeros métodos para la obtención del HABA fue el realizado por Peter Wuo (1971)⁶¹, quién lo preparó a partir del ácido diaminobutírico, protegiendo el grupo α -amino con la formación de un quelato de cobre, haciendo reaccionar este compuesto con N-carboxyftalimida y HCl. El producto obtenido se trató con HNO_2 y AcOH , para dar el ácido 5-2-hidroxil-4-ftaloilamino-n-butírico, según el esquema 16.

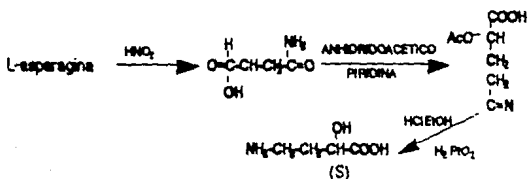


ESQUEMA 18

Naito, et al. (1974)⁴⁰, patentó su método para preparar HABA a partir de L-2-hidroxiglutámico, preparado del ácido L-glutámico. (Este método fue al utilizado en este

trabajo).

En 1978 Toshio Yoneta, preparo el HABA con un 30% de rendimiento usando L-asparagina como material de partida, segun se muestra en el esquema 19.



ESQUEMA 19

Como ya mencionamos anteriormente en este trabajo se describe la obtención del HABA a partir de glutamato monosódico, método que fue reportado por Naito⁴⁰. Esta fue la ruta que más se ajustó a nuestras necesidades, teniendo como objetivo preparar el HABA bajo las condiciones del laboratorio, a partir de materiales disponibles en el mercado nacional de bajo costo, y sobre todo el caracterizarlo tanto física como espectroscópicamente.

El cuadro número uno muestra algunas características de los métodos de síntesis descritos en la literatura ; reactivos usados, etapas, estereoisomería etc.

AUTOR	REACTIVOS	ACCESIBILIDAD	ETAPAS	ESTEREOQUIMIA	RENDIMIENTO	TIEMPO DE REAC.
T. TAMADA	3-BROMO-2-METOXI-1-PIRROLIDINA.	No	6	DL.	19%	13hr
	ACETONITRIL.	SI				
	COMPLEJO (1:8 CROVA) DE ACETONITRIL.	No				
	DICLOROMETANO.	SI				
	ACIDO CLORHIDRICO.	SI				
	DOWEL 50W-12.	No				
	NITRATO DE AMONIO.	SI				
	L-ASPARAGINA.	SI				
	NITRITO DE SODIO.	SI				
	ACIDO CLORHIDRICO.	SI				
T. TORIETA	AMBIOLIDO ACETICO	SI	3	L	30%	8hr
	PERIDINA.	SI				
	CATALIZADOR H ₂ /PtO	-				
	PTALAMATO DE AMONIO.	No				
	ACETATO DE ETILO	SI				
	SULFATO DE SODIO.	SI				
	ACIDO L-2-HIDROXI-SUCCINAMICO.	SI				
	DOWEL 50W-12	No				
	NITRATO DE AMONIO	SI				
	3-BROMO-2-BUTIROLACTONA.	No				
G.P. OHL	CARBONATO DE POTASIO	SI	4	L	52%	16hr
	ACIDO CLORHIDRICO.	SI				
	D.M.F.	SI				
	METILHIDRAZINA.	No				
	TRITANOLAMINA.	SI				
	ETANOL ABSOLUTO.	SI				
	PTALBIDA POTASICA.	No				
	AGUA DESIONIZADA.	SI				
	ACIDO CLORHIDRICO.	SI				
	NITRITO DE SODIO.	SI				
P. WOO Y TUKIO H.	CARBONATO DE COBRE II	SI	5	L	39.2%	85hr
	II-CARBONATO DIPTALMIDA.	No				
	NITRATO DE SODIO.	SI				
	NaOH	SI				
	FORMATO DE HIDRAZINA	SI				
	CARBONATO DE CALCIO.	SI				
	ACIDO CLORHIDRICO	SI				
	DOWEL 2-2 (OH)	-				
	ACIDO DIAMINOTRIBUTICO.	No				
	SI	SI				
H. SATO.	ETANOL.	SI	3	L	37%	12 hr
	ETILATO DE SODIO.	SI				
	NITROMETANO.	SI				
	DICLOROMETANO	SI				
	FLUOROBORATO DE TRIETIL-OSILUM.	No				
	NITROGENO.	SI				
	ACILATO DE METILO.	SI				
	NaOH	SI				
	ACIDO CLORHIDRICO.	SI				
	H ₂ /PtO ₂	-				
AMBIOLITA CC-129	SI					
T. NAITO	NaOH	SI	2	L	20%	24hr
	GLUTAMATO MONOHIDRICO	SI				
	ACIDO CLORHIDRICO.	SI				
	NITRITO DE SODIO.	SI				
	NITRATO DE AMONIO.	SI				
	ETANOL.	SI				
	ACETATO DE ETILO.	SI				
	AMBIOLITA B-128.	SI				

En el cuadro número uno se observó que el método de Yamada⁵² fue inaccesible por resultar costoso y complicado, además de la poca disponibilidad de algunos de los reactivos involucrados en este. Respecto a los métodos de Yoneta⁵³ y P. Woo⁶¹, resultan poco prácticos ya que el proceso incluye una larga etapa de purificación del enantiomero. En el caso del método de P. Woo hay que preparar el ácido diaminobutírico, que implica más materias primas y más etapas de síntesis. Ahora bien los procesos de síntesis que describen O.P. Goel y H. Sato resultan poco prácticos, ya que involucran etapas el uso de muchos reactivos lo que aumenta el costo, además de que algunos de los reactivos no están disponibles en el mercado nacional, aun cuando la isomería es adecuada estos métodos no están dentro de la planteada en nuestro objetivo, por lo que se siguió la ruta propuesta por Naito (1974)⁴⁰ y buscar las condiciones más adecuadas para obtenerlo en el laboratorio. Este método es uno de los más sencillos descritos y sus materias primas son de bajo costo y accesibles en el mercado nacional; algunos de sus proveedores son mencionados en el cuadro No. 2

CUADRO No 2

PRODUCTORES Y PROVEEDORES DE LAS MATERIAS PRIMAS USADAS EN ESTE TRABAJO

GLUTAMATO MONOSODICO.

Ajinomoto de México, S.A. de C.V.

Alquimia Mexicana S de R. L.

Industrializadora Química de Jalisco S.A. de C.V.

Química Marsol, S.A.

HIDRÓXIDO DE AMONIO.

Alquimia Mexicana, S. de R.L.

Amonal química Mexicana.

Productora Química Mexicana

NITRITO DE SODIO,

Abastecimientos Químicos, S.A. de C.V.

Alquimia Mexicana, S de R.L.

Cia. Química Anglo-Mexicana, S.A.

Distribuidora de Productos Químicos Hidalgo, S.A.

ACETATO DE ETILO.

Alquimia Mexicana. S. de R.L.

Celanese Mexicana, S.A.

DiQuimex, S.A. de C.V.

H. Kahnstamm de Mexico, S.A. de C.V.

ETANOL.

Alcoholera de Querétaro.

Alcoholes y Química, S.A.

AMBERLITA IR-120.

Química Trepoc, S.A. de C.V.

Rhom and Hess

Al Kem de México, S.A. de C.V.

Química de México, S.A. de C.V.

ACIDO CLORHIDRICO

Abaquim Centro, S.A. de C.V.

Alquimia Mexicana, S de R.L.

Productos Químicos Básicos, S.A. de C.V

Productos Químicos Monterrey, S.A.

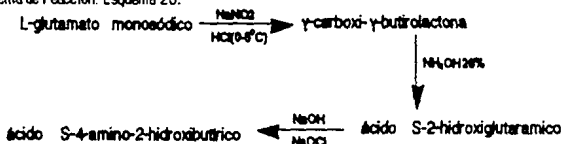
HIPOCLORITO DE SODIO.

Alquimia Mexicana S. de R. L.

Transformadora química Mexicana.

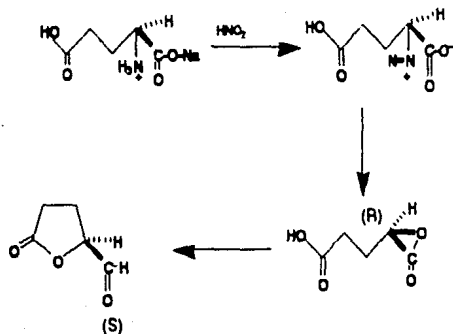
Servicios Químicos Industriales.

Ahora bien la obtención del ácido S-4-amino-2-hidroxi-butírico, se realizó según el siguiente esquema de reacción. Esquema 20.



ESQUEMA 20

En la la primer etapa, la formación de la (S)- γ -lactona, es a partir de L-glutamato monosódico, deaminándolo con ácido nítrico. Esta reacción se lleva a cabo con total retención de configuración y su mecanismo ha sido estudiado desde los 50's. Según Brewster (1950) el curso estereo de la reacción es dirigido por una sustitución nucleofílica bimolecular $\text{S}_{\text{N}}2$, proponiendo por primera vez que debe de haber una doble inversión de configuración y por lo tanto una total retención. No es sino hasta más tarde que Austin (1960) y Leverret (1979)²⁸, confirman este mecanismo, coincidiendo en la formación simultánea de la lactona através de el siguiente mecanismo. Esquema 21.



ESQUEMA 21

Este mismo mecanismo involucra ayuda quimérica del grupo adyacente, formando así la *R*-lactona protonada, sumamente lábil, abierta por atracción nucleofílica del otro carbonilo, formando la *S*- γ -lactona en forma estereoselectiva que tiene la misma configuración que el material de partida (*S*) en el carbón quiral.

La estereoquímica de esta reacción ha sido confirmada en los trabajos de Cervinka^{7-A}, quien mediante métodos espectroscópicos, retrosintéticos y de dicroísmo circular ha establecido la configuración absoluta de la lactona obtenida por este método

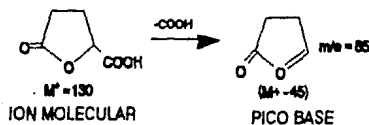
La lactona que se obtuvo al reaccionar el glutamato monosódico con el ácido nitroso, fue purificada por destilación fraccionada a presión reducida (p.eb. 160-162 a 4 mm Hg) y por recristalización de cloroformo-etanol 1:1. Este producto es muy higroscópica y se descompone si se calienta a temperaturas mayores de 50°C a presión atmosférica, sus constantes físicas y

espectroscópicas son las siguientes: p.f. = 60-63°C, $[\alpha]_D^{20} = -4.19$ (c=2.1; H₂O) (las

reportadas en literatura son las siguientes: p.f. = 71 - 72°C; $[\alpha]_D^{20} = -15.7$ (c=2.4; EtOH)

En el espectro de I.R. (ν max, cm^{-1}) en pastilla de KBr; presenta en el rango de (2560 - 3280) una banda ancha característica de OH del ácido carboxílico, en 1733 aparece una banda fina perteneciente al carbonilo del ácido; y en 1794 se observa una banda fina perteneciente al carbonilo de la γ -lactona de cinco miembros (ver espectro 1). Su espectro de $^1\text{H-RMN}$ (30 MHz; CDCl_3 ; δ en ppm.) $\delta=7.87$ aparece un singulete que integra para un hidrógeno perteneciente al ácido, que desaparece con agua deuterada (D_2O); $\delta=5.0$ observamos un multiplete que integra para un proton asignado al metino quiral, $\delta=2.55$ ppm aparece un multiplete que integra para dos protones asignado al metileno unido al metino, $\delta=2.62$ se observa un singulete que integra para dos protones asignado al metileno unido a carbonilo, ya que éste se haya desplazado a campo más alto que el unido al metino (Espectro 2). Las constantes informadas en este trabajo coinciden con las reportadas por Uzi Ravid (1977)⁵⁹ y J.P. Vigneron (1974)⁶⁰

La confirmación de la obtención de este producto se logró através de la espectroscopia de masas (E.M.), que presenta como pico base la pérdida del grupo carboxilo y formación de la doble ligadura dentro del anillo; $m/e = 85$ ($\text{M}^+ - 45$).



ESQUEMA 22

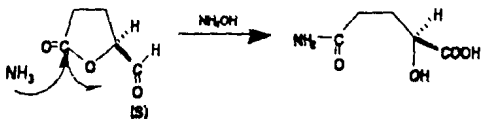
Para observar su pureza, se realizó su espectro de carbono trace $^{13}\text{C-RMN}$ (D_2O , 80 MHz; δ en ppm), presenta diez señales; cinco corresponden a la γ -carboxi- γ -butirolactona y cinco al diácido, (mostrado en el esquema 23) que se formó debido a las condiciones experimentales en que fue corrido el espectro



ESQUEMA 23

Las señales que aparecen en $\delta=26.21$ ppm (\blacksquare , CH_2 unido a CH); $\delta=28$ (\blacksquare , CH_2 unido a C=O); $\delta=77.8$ (δ , CH); $\delta=177$ (S , C=O); $\delta=181.4$ (S , C=O), señales que coinciden con las reportadas en la literatura para la γ -carboxi- γ -butirolactona por Uzi Revid (1978) 59, y las señales que aparecen en $\delta=29.2$ (\blacksquare , CH_2); $\delta=29.4$ (\blacksquare , CH_2); $\delta=70.3$ (δ , CH); $\delta=178.2$ (S , COOH), fuerón asignadas al diácido del esquema 23. Este ácido aparece debido a las condiciones en que fue realizado el espectro, ya que se usó como disolvente agua deuterada. El rendimiento de esta primera etapa fue del 60%.

La segunda etapa consistió en hacer reaccionar la γ -lactona con hidróxido de amonio (28%) para generar la amida correspondiente (ver esquema 24), reacción en la que no interviene el centro quiral por lo que su configuración no es alterada. El ataque nucleofílico debe ser como se indica en el siguiente esquema.



ESQUEMA 24

Las condiciones de esta reacción son muy restringidas, ya que la variación en el tiempo de reacción o aumento de la cantidad de hidróxido de amonio genera la diamida, (ver esquema 25) que por el método de degradación de Hoffman no da el producto esperado (HABA), aunque por otros métodos reportados por P.K. Woo (1971) 61 y Yukio Horieuchi (1976) 17, mediante desaminación parcial protegiendo el grupo 4-amino con un complejo de cobre logran obtener el HABA. Sin embargo siguiendo las condiciones que aparecen en la parte experimental se obtiene la amida con

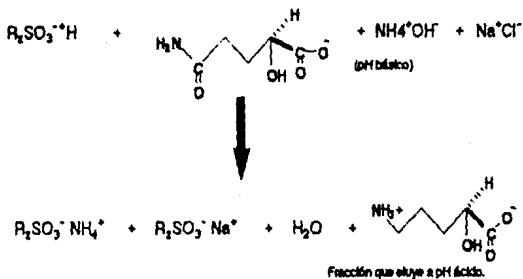
un buen rendimiento (90%).



ESQUEMA 25

Este compuesto fue purificado empleando cromatografía de intercambio iónico en columna usando Amberlita I.R. 120 fuertemente ácido, eluyendo con hidróxido de amonio. Este método fue utilizado ya que es el más fácil para purificar productos muy polares usando como factor de separación la acidez o basicidad de los compuestos. La resina de intercambio catiónico fue usada en forma ácido, acondicionándola previamente como se menciona en la parte de resinas de intercambio iónico.

La forma en que se llevó a cabo la separación de los iones en la resina se puede esquematizar de la siguiente manera,



*R₂ = partícula polimérica de la resina
(poliestireno de entecas transversas)

ESQUEMA 26

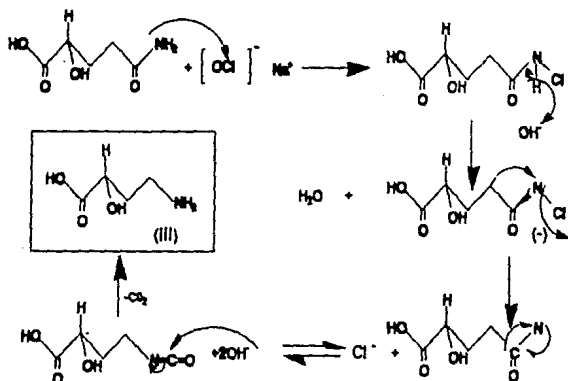
Esta purificación solo es eficiente cuando se calculan aproximadamente los equivalentes necesarios de resina para purificar el aminoácido sin que este quede atrapado. Observar que la forma en que está en un principio es de base libre y al salir es de switerion. Si los equivalentes de la resina están en exceso se corre el peligro de llegar al pKa del ácido carboxílico quedando el aminoácido con carga positiva y con posibilidad de union a la resina.

El ácido S-2-hidroxi-glutámico obtenido y purificado mediante este método, unicamente ha sido sintetizado por Naito (1975)⁴⁰ y la informacion acerca de éste es limitada, así que las constantes físicas y espectroscópicas no han sido confrontadas, y son las siguientes. I.R. (ν max., cm^{-1}) suspensión de nujol; en 3200 se observa una banda media de NH_2 de la amida; en 3360 aparece una banda de alcohol, en 3460 observamos una banda de OH del ácido carboxílico y en 1010 se presentan dos bandas finas de alcohol secundario; además de un grupo carbonilo de amida en 1670 cm^{-1} (ver espectro 5). El espectro de $^1\text{H-RMN}$ (80 MHz, D_2O , δ en ppm); $\delta=4.4$ (dd, 1H, CH); $\delta=2.4$ (m, 2H, CH_2 unido a C=O); $\delta=2.0$ (m, 2H, CH_2 unido a CH); (Espectro 6).

Su espectro de masas no presenta el ión molecular en 147 unidades de masa, que sería compatible con el peso molecular requerido, pero muestra un pico a 129 unidades de masa pertenecientes al ion ($\text{M}^+ - 18$) y otro a m/e 130 que pertenece al ión ($\text{M}^+ - 17$) por pérdida de una molécula de agua y otro fragmento m/e 85 del ión ($\text{M}^+ - 62$) por pérdida del grupo carboxílico del ácido, observamos además un fragmento m/e 59 típico de amida primaria*, que según el arreglo de MacLafertli es $\text{NH}_2-\text{C}(\text{O}^+\text{H})=\text{CH}_2$. También se presenta un fragmento m/e 44 típico de amidas; $\text{O}=\text{C}=\text{NH}_2^+$ y el fragmento m/e 45 típico de ácido. Para confirmar lo anterior así como para tener una idea de la pureza óptica de este producto se hizo el espectro de carbono trece. En este espectro unicamente aparece una señal para cada carbono y tienen la multiplicidad esperada. En $\delta=178.05$ ppm aparece un carbonilo de ácido y en 179 ppm otro que se atribuye al carbonilo de la amida. La señal en $\delta=70.26$ ppm (d, CH); $\delta=31.46$ y $\delta=30.14$ (2t 2CH_2).

La tercera etapa consistió en una degradación de Hoffman, sobre el ácido S-2-hidroxi-glutarámico (mostrado en el esquema 24) con hipoclorito de sodio en medio básico. Es importante señalar que el hipoclorito de sodio usado fue preparado "IN SITU" burbujando cloro

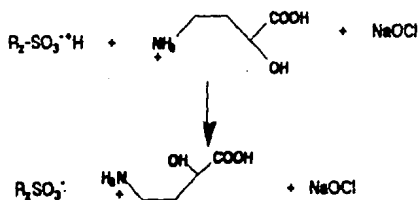
dentro de una solución de hidróxido de sodio, ya que resulta ser más eficaz que el comercial. La reacción se muestra en el siguiente esquema 27.



ESQUEMA 27

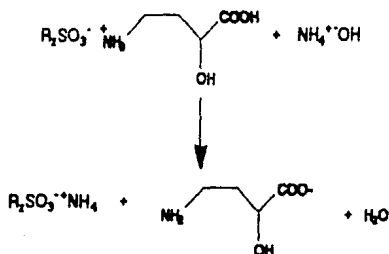
La purificación de este aminoácido se llevó a cabo también, por cromatografía de intercambio iónico. La mezcla de reacción acidificada fue pasada a través de una columna que contenía Amberlita I.R. 120 en forma ácida, (previamente activada y lavada como se señala en la parte de resinas de intercambio iónico) cuando la mezcla pasa a través de la columna, el aminoácido cargado positivamente desplaza a los iones sodio uniéndose al anión fijo de la resina (SO_3^-).

(Esquema 28)



ESQUEMA 28

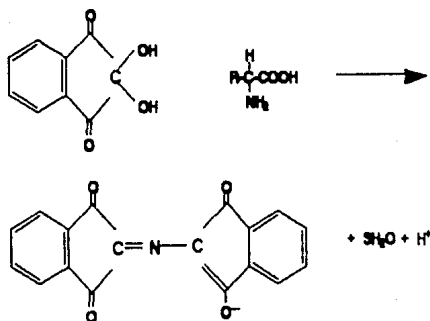
Observese que un factor importante para la separación es la diferencia en el rango al cual son ionizados los componentes de la mezcla. Posteriormente se procedió a lavar la resina para eliminar los iones que no estaban unidos al centro activo de la resina. Por último la fase más importante de la purificación fue eluir con amoníaco fraccionando en porciones de 50 ml, para prevenir la impurificación con posibles contaminantes unidos a la resina que también fueron expulsados de la resina, al igual que el aminoácido. (Esquema 29)



ESQUEMA 29

Es importante visualizar que en este caso el intercambio del aminoácido por el ión amonio es preferente a la de cualquier otro contaminante, debido al similar rango de ionización. La detección del aminoácido se llevó a cabo con ninhidrina (Esquema 30). Las fracciones que dieron prueba positiva, fueron evaporados a presión reducida. Cabe señalar que la concentración de amoníaco, debe ser equimolecular, para evitar contaminar el reactivo.

REACCION DE DETECCION DEL AMINOACIDO.



ESQUEMA 30

La mezcla obtenida dió 18% de un sólido cristalino levemente amarillo con punto de fusión 200-202°C. El rendimiento antes mencionado no fue optimizado debido a que esta etapa no formó parte de nuestro objetivo, además de la problemática presentada en la última parte de la síntesis en la que se involucra la destilación a presión reducida de grandes de agua lo que resulta ser problemático a nivel de laboratorio, pero a nivel de planta piloto este problema se reduce a un mínimo. Por otra parte se puede asegurar que este método es uno de los más accesibles para preparar el ácido S-4-amino-2-hidroxitútrico en México, por que esta secuencia consta de reacciones sencillas y sus materias primas están disponibles en el mercado nacional.

El ácido S-4-amino-2-hidroxitútrico obtenido de la separación de la mezcla fue recrystalizado de agua-etanol y sus constantes físicas y espectroscópicas son las siguientes: p.f.

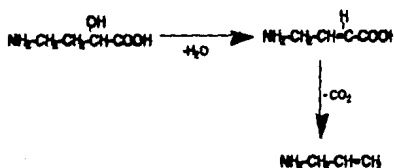
=200-202°C [α]_D²⁰ = -31.5 (c=2; H₂O) ; I.R. (v max.; cm⁻¹) (pastilla de KBr) . En la región de

los 3100-3400 aparece una banda ancha de OH característica de ácidos, que se encuentra en forma de carboxilato; en 799 y 1534 se observan bandas de amina (ver espectro 9).

El espectro de $^1\text{H-RMN}$ (80 MHz, ppm, D_2O) ; presenta en $\delta=4.1$ (2d 1H,CH); $\delta=3.1$ (t, 2H,CH_2); $\delta=2.0$ (m, 2H,CH_2 unido a CH) (ver espectro 10).

El espectro de carbono tracea (D_2O) confirma la estructura ya que se observan cuatro carbonos uno de ellos un carbonilo de ácido en $\delta=180$ ppm; en $\delta=71$ ppm se observa un carbono quiral correspondiente al CH; en $\delta=38$ un triplete del CH_2 unido al CH; y en $\delta=32$ un triplete del CH_2 unido al NH_2 . (Espectro 11).

El espectro de masas presenta un ión molecular de 119 unidades de masa congruentes con el peso molecular del HABA ; localizándose además el fragmento $m/e=101$, que fue asignado al ión ($\text{M}^+ -63$) por subsecuente pérdida del ácido carboxílico, que se confirmó con el fragmento $m/e=44$. (ver esquema 31 y espectro 12)



ESQUEMA 31

Las constantes tanto físicas como espectroscópicas del ácido-S-4-amino-2-hidroxi-butírico obtenido se comparan con las descritas en la literatura en el cuadro 3.

CUADRO III

AUTORES	P.F.	$(\alpha)_D$	pKa
Y. Saito <i>et al</i> (1970)	199-201	-4.5 (C=5, H_2O)	-
P. Wood <i>et al</i> (1971)	203-206	-28.2 (C=1.22; H_2O)	(2.9 y 9.9)

T. Yoneta et al (1978)	197-198	-26.5 (C=1.2,H ₂ O)	-
O.P. Goel et al (1985)	192.-193.5	-	-
Y. Horiuchi et al (1976)	200-200.5	-29.1 (C=1.0,H ₂ O)	-
OBTENIDO	200-202	-31.5 (C=2, H ₂ O)	-

CUADRO 4

AUTORES	IR (v max, cm ⁻¹)	1H- RMN (d ppm)
Y. Horiuchi	-	-
O.P. Goel	(KBr) 1571,1653, 3435	(D ₂ O) 1.97(m,2H) 3.16(t,2H) 4.16(dd,H)
T. Yoneta	-	(D ₂ O) 2.0(m,2H) 3.1(t,2H) 4.1(m,1H)
P. Woo	-	(D ₂ O) 1.97(m,2H) 3.16(t,2H) 4.16(dd,1H)
OBTENIDO	(KBr) 3480, 1584, 1534, 799.	(D ₂ O) 2.0 (m,2H) 3,1(t,2H) 4.1 (dd,2H)

Como se observa al confrontar los datos asignados con los reportados anteriormente se obtuvo el aminoácido esperado. La rotación óptica nos señala la obtención del isómero (S), aun cuando ésta no es una prueba determinante, podemos asegurar que se obtuvo el isómero adecuado por la retención de configuración involucrada en la síntesis y por haber partido de un material ampliamente conocido que en este caso fue el isómero (S) del glutamato monosódico.

PARTE EXPERIMENTAL.

APARATOS USADOS.

Las constantes físicas y espectroscópicas se determinaron en los siguientes aparatos:

a) Punto de fusión; se determinaron en un aparato Fisher-Johns, y no están corregidos.

b) Los espectros de infrarrojo se determinaron en un espectrofotómetro Perkin-Elmer 681, 283 B y en un Nicolet-Ft-55X; las unidades están dadas en cm^{-1} y las determinaciones fueron realizadas por el Q. Villena Iribe René y el Q. Torres Hernández Misael.

c) Los espectros de resonancia magnética nuclear protónica (^1H -RMN), fueron efectuados por el Q. Cardenas Pérez Jorge y el Q. Gevílio Ramírez Rubén en un aparato Varian Ft-80A de 80 MHz, empleando como referencia tetrametilsilano (TMS), y los desplazamientos químicos (δ) se indican en partes por millón (ppm). En las señales se reporta el desplazamiento químico y entre paréntesis el tipo de señal (s, singulete; d, doblete; t, triplete; q, cuarteto y m, multiplete), después se indica para cuantos protones integra y el carbono a que pertenece.

d) Los espectros de resonancia magnética nuclear de carbono trece (^{13}C -RMN) fueron efectuados por el Q. Cardenas Pérez Jorge y el Q. Gevílio Ramírez Rubén, en un aparato Ft-80A, empleando como referencia interna Dioxano; los desplazamientos químicos se indican en partes por millón ppm (δ). En las señales se indica el desplazamiento y en seguida el tipo de carbono del que se trata y entre paréntesis la multiplicidad que presenta.

e) La rotación óptica (R.O) fue medida por el Q Torres Hernández Misael y el Q Villena Iribe René. Los resultados se expresan como rotación específica $[\alpha]$, siendo ésta, la rotación en grados producida por una solución que contiene 1g de sustancia por mililitro, examinada en un tubo de polarímetro que tiene una longitud de un decímetro.

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\text{Rotación observada}}{\text{Longitud del tubo (dm)} \times \text{conc. (g/ml)}}$$

La raya D de sodio (5893 \AA) fue la fuente luminosa y la temperatura se especifica en el

ángulo superior derecho del paréntesis; indicando el número positivo (+) o negativo (-) y después entre paréntesis concentración y disolvente.

El desarrollo de las reacciones y la pureza de los productos se determinaron mediante cromatoplaques de sílica gel 60 Merck F-254, empleando como reveladores; lámpara de U.V., vapores de yodo y solución de ninhidrina al 4%.

Para purificar los productos se utilizó cromatografía de intercambio iónico, en columna empacada con resina fuertemente ácida, Amberlita IR-120 plus en forma ácida.

f) Los espectros de masas fueron efectuados por el IQ Velasco Ibarra Luis y el Q José Federico del REio Portillo, en un espectrofotómetro Hewlett-Packard 5985 B por impacto electrónico y/o ionización química.

METODOLOGIA.

γ -carboxi- γ -butirolactona.

A una solución de L-glutamato monosódico (38g.; 0.2 mol) en agua (80 ml) y ácido clorhídrico concentrado (50 ml) se le agrega lentamente una solución de nitrito de sodio (21g ; 0.3 mol) en agua (45 ml) a baja temperatura (0-5°C). La mezcla de reacción se agitó durante tres horas y reposó 18 horas a 4°C.

El disolvente de la mezcla de reacción fue evaporado a presión reducida (4 mm Hg) colectando el destilado de p.de eb. de 175°C; que fue enfriado cristalizando un sólido de p.f. 60-63°C y $\left[\alpha \right]_D^{17.5} = -4.19 (c=2.17; H_2O)$, cuyas constantes espectroscópicas son: IR (cm⁻¹); 2560 - 3280 banda ancha de OH del ácido; 1733 banda fina de carbonilo del ácido; 1794 banda fina de la γ -lactona de cinco miembros. ¹H-RMN (δ , ppm) δ =7.87 (S, 1H, del COOH); δ =5.0 (t, 1H, del CH); δ =2.55 (m, 2H, de CH₂ unido al CH); δ =2.62 (S, 2H, del CH₂ unido al C=O). E.M. m/e= 131 (M⁺) (0.1%); m/e=85 (M-45) (100%)

Ácido S-2-hidroxi-glutámico.

La γ -carboxi- γ -butirolactona (3.3; 0.25 mol) de p.f 60-63°C fue añadido a una solución previamente enfriada de hidróxido de amonio al 28% (30 ml) y se agitó durante 18 horas. La mezcla de reacción se destiló a presión reducida, quedando como residuo un líquido viscoso de color amarillo muy higroscópico, se añadieron 30 ml de agua destilada y la solución fue pesada através de una columna de intercambio iónico, usando Amberlita IR-120 (50 ml en forma ácida), el eluato ácido (pH=1.5 aprox.) se evaporó a presión reducida (4 mm Hg). El residuo salino se recristalizó de agua etanol, dando 3.5g (94% de rend.) del ácido S- 2-hidroxi-glutámico

de p.f. 119-120°C y $\left[\alpha \right]_D^{30} = -4.0 (c=2; H_2O)$ cuyas constantes espectroscópicas son: IR (cm⁻¹); 3460, OH del ácido; 1700, C=O del ácido; 3360, OH del alcohol; 1100 y 1010, OH secundario; 3200, NH₂ de la amida; 1670 C=O de la amida. ¹H-RMN (δ , ppm) δ =4.4 (2d, 1H, CH); δ =2.3

(m, 2H, CH₂ unido al carbonilo) δ =2.0 (m, 2H, CH₂ unido al CH). ¹³C-RMN (δ , ppm) δ =179 (S, NH₂-C=O); δ =70.26 (d, CH); δ =31.46 (m, NH₂-CO-CH₂); δ =30.46 (m, CH₂-CH)

Ácido S-4-amino-2-hidroxi-butírico (HABA)

El gas cloro generado por la acción de ácido clorhídrico concentrado (18 ml) sobre permanganato de potasio (1.62g, 0.0102 mol) se burbujó en una solución de NaOH al 10% (100 ml). El ácido S-2-hidroxi-glutámico (1.46g) se agregó a la solución de hipoclorito de sodio previamente generada, agitando 20 min a T.A. y 2.5 horas a 50°C, la mezcla de reacción se acidificó (pH=4) y se pasó através de una columna con Amberlita IR-120 (200 ml, en forma ácida), eluyendo con agua desionizada hasta pH=5 y luego con NH₄OH 1N, fraccionando en porciones de 50 ml. Las fracciones ninhidrínicas positivas se evaporaron a presión reducida para dar 200 mg de un sólido amarillo muy higroscópico, que fue recristalizado de agua etanol,

obteniendo cristales amarillos de p.f. 200-202°C y $\left[\alpha \right]_D^{20} = -31.5$ (c=2; H₂O) cuyas constantes espectroscópicas son: IR (cm⁻¹); 3480-2600, banda ancha de ácido carboxílico, OH y NH₂; ¹H-RMN (δ , ppm, CDCl₃); δ =4.1 (2d, 1H, CH); δ =3.1 (t, 2H, CH₂); δ =2.0 (td, 1H, CH₂-C=O); δ =1.8 (2d, 1H, CH₂-C=O). ¹³C-RMN (δ , ppm); δ =180 (S, C=O); δ =71 (d, CH); δ =38 (t, CH₂-NH₂); δ =32 (t, CH₂-CH).

CONCLUSIONES.

1) Se utilizó una ruta de síntesis accesible y estereoselectiva, usando materias primas disponibles en el mercado nacional.

2) La síntesis del ácido S-4-amino-2-hidroxitubirico (HABA) se realizó usando la γ -carboxi- γ -butirolactona como precursor estereoselectivo, confirmando que la reacción proceda con retención de configuración.

3) Se llevó a cabo la caracterización espectroscópicas del HABA.

4) El uso de resinas de intercambio iónico, debido a que pueden reutilizarse, ofrecen una reducción considerable del costo de purificación del HABA, ya que por su alta polaridad cualquier otro método resultaría costoso e inadecuado.

BIBLIOGRAFIA

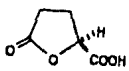
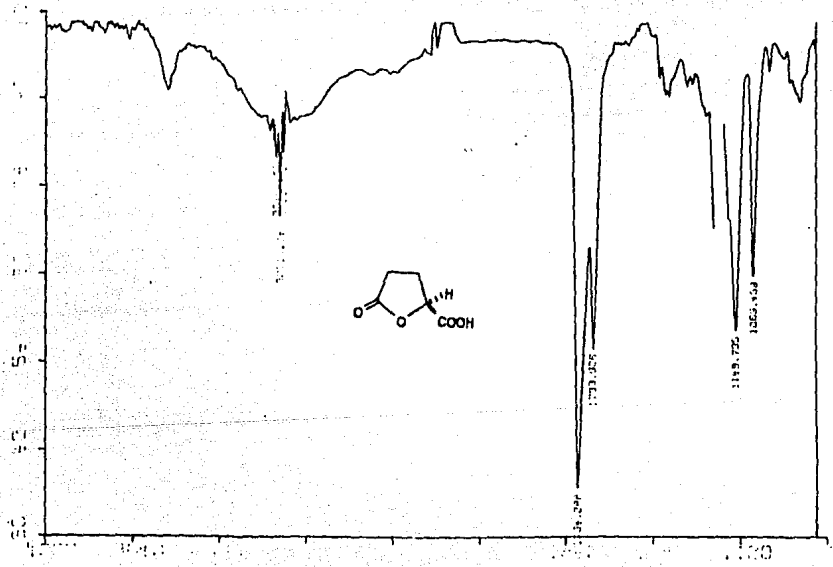
- 1) Aschwanden, W. and Kyburz, E., *Ger Offen.* 3 029 671, 26 Feb. 1981. C.A. 98; 53685g
- 2) Austin, A.T. and Howard, J., *J. Chem. Soc., Part. III*, 3593-3603, 1961
- 3) Barbier, P. and Benazra, C., *J. Med. Chem.*, 8, (25), 943-6, 1982
- 4) Bauce, L.G., and Goren, H. J., *Int. J. Pept. Protein Res.*, 14 (3), 216-26, 1980.
- 5) Bjorn, R. and Craing, J.C., *Acta Chem. Scandinavica* B34, 731-3, 1980.
- 6) Brewster, P. et al., *Natura*, 166, 179-80, 1950
- 7) Bristol Meyer Co., U.S. appl 330 377, 7 Feb. 1973, 26 pp. C.A. 83; 43691g.
- 7a) Cervinka, O. et al., *Chem. Commun.*, 38, 897-901, 1973.
- 8) Cron, M.L.J. et al., *Ger Offen* 2 818 822, 9 Nov. 1978, 94 pp., C.A. 90; 152551b.
- 9) Denki, K. and Kogyo, K., *Japan patent* 8 228 035, 15 Feb. 1982., C.A. 97; 23301r.
- 10) Doolittle, R.E. et al., *J. Chem. Ecol.*, 6, (2), 473-86,
- 11) Ebert, L.B. et al., *J. Am. Chem. Soc.*, 96 (25), 7842, 1974.
- 12) Eguchi, C. and Kakuta, A., *Bull. Chemm. Soc. Jap.*, 47, (7), 1704-1708, 1974.
- 13) Furlen Meier, A. et al, U.S. appl 3 839 322, 12 Oct. 1976. C.A. 86; 106576.
- 14) Gerson, I.M., *Brit.* 1 204 357, 9 Sep. 1970,
- 15) Goel, O.P. et al, *Organic Preparations and Procedures Int.*, 17, (2), 91-7, 1985.
- 16) Hoffman, M. and Wasielewsky, C., *Rocz. Chem.*, 49, (1), 151-8, 1975.
- 17) Horiwuchi, Y. et al., *Agric. Biol. Chem.*, 40, (8), 1649-50, 1976.
- 18) Humbert, F.E.L. and Guth, G., *Ger Offen.* 2 339 661, 29 Feb. 1974, 29 pp.
- 19) Kagayama, H. et al., *Japan* 7 411 994, 20 Mar. 1974.
- 20) Karobeth, M. and Sperk, G., *Natl. Acad. Sci. USA*, 76, (2), 1004-6, 1979.
- 21) Kawaguchi, H. and Naito, T., *Ger Offen* 2 234 315, 8 Feb. 1973. C.A. 78; 136615x
- 22) Kagueuchi, H. et al., U.S. 3 792 037, 12 Feb. 1974, C.A. 84; 90516j.
- 23) Kondo, S. et al., *The Journal of Antibiotics*, XXVI, (7), 705-701, 1973.

- 24) Kondo, S. et al., *The Journal of Antibiotics*, XXVI, (7), 412-415, 1973.
- 25) Kondo, S. et al., *The Journal of Antibiotics*, XXVI, (7), 804-812, 1973.
- 26) Konishi, M. Tsukiura, H., *Ger. Offen.* 2 332 485, 10 Jan. 1974. 30 pp.
- 27) Koucky, M., *Zhivatsna Myrada*, 22, (7), 533-8, 1977.
- 28) Leverett, R.S. and Howard, J.W., *J. Chem. Ed.*, 56, 696-7, 1979.
- 29) Matsunaga, K. et al., *The Journal of Antibiotics*, 37, (5), 596-601, 1984.
- 30) McCombie, S., U.S. 4 231 945, 4 Nov. 1980, C.A. 94; 192646a.
- 31) McCombie, S., U.S. 4 212 860, 15 Jul. 1980, C.A. 94; 31046q.
- 32) Miyasaka, T. et al., *The Journal of Antibiotics*, 33, (5), 527-32, 1980.
- 33) Miyaki, T. and Matsumoto, K.L., U.S. 3 823 069, 9 Jul. 1974, C.A. 82; 2632z.
- 34) Mori, K., *Tetrahedron*, 31, 3011-3012, 1975.
- 35) Naito, T. et al., *Ger Offen* 2 360 946, 20 Jun. 1974, C.A. 81; 105910x.
- 36) Naito, T. et al., U.S. 3 796 699, 12 Mar. 1974, C.A. 80; 121281c.
- 37) Naito, T. et al., U.S. 3 796 698, 12 Mar. 1974, C.A. 80; 121280b.
- 38) Naito, T. et al., U.S. 3 808 198, 30 Apr. 1974, C.A. 81; 4214t.
- 39) Naito, T. et al., *Ger Offen* 2 322 576, 22 Nov. 1973, C.A. 80; 37428y.
- 40) Naito, T. et al., *Japan* 7 424 914, 5 Mar. 1974, C.A. 81; 4264j.
- 41) Naito, T. et al., *Ger Offen.* 2 555 405, 10 Jun. 1974, C.A. 85; 78317h.
- 42) Nikishin, G.I. et al., *Izv. Akad. Nauk SSSR, Ser. Khim.*, 3, 577-9, 1972.
- 43) Pepazova, P. et al., *Khim. Farm. Inst.*, 14, 93-104, 1975.
- 44) Park, W.K. et al., *Origins of Life*, 6, 99-107, 1975.
- 45) Pirillo, D. et al., *Il Farmaco Ed. Sci.*, 39, (11), 963-7, 1984.
- 46) Yuy ruey, J. et al., U.S. 4363815, 14 Dec. 1982, C.A. 98; 95669k.
- 47) Setto, Y. et al., *Tetrahedron Letters*, 56, 4863-4866, 1970.
- 48) Sorbaev, D.S., et al., *Izv. Akad. Nauk. Kirg. SSR*, 5, 56-8, 1985, C.A. 104; 40679a.
- 49) Sato, H. et al., *Tetrahedron Letters*, 965-966, 1975.
- 50) Schreiber, R.H. et al., U.S. 3 974 137, 10 Aug 1979, C.A. 85; 160472p.
- 51) Scheumer, J.N. et al., *J. Agric. Food Chem.*, 25, (2), 310-20, 1977.

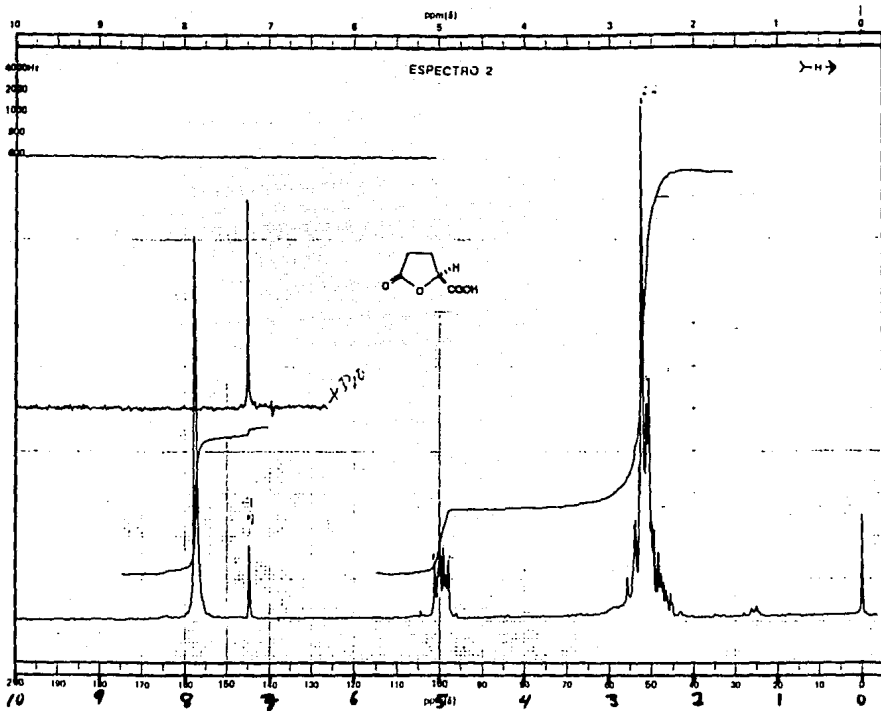
- 52) Takaiwa, A. et al., *Agric. Biol. Chem.*, **48**, (8), 2061-2065, 1974.
- 53) Takeyuki, U. et al., *The Journal of Antibiotics*, **31**, (10), 991-6, 1978.
- 54) Taniguchi, M. et al., *Tetrahedron*, **30**, 375-88, 1983.
- 55) Thomas, H. G. et al., *Chemische Berichte*, **116**, 375-388, 1983.
- 56) Umazawa, H. et al., *Ger Offen* 2 512 567, 25 Sep. 1975, 27 pp, C.A. **84**; 44611p.
- 57) Umazawa, H. et al., *The Journal of Antibiotics*, **34**, (12), 1635-40, 1981.
- 58) Umazawa, H. et al., *Ger Offen* 2 440 956, 13 Mar. 1975, C.A. **83**; 43692h.
- 59) Uzi Revid, R. et al., *Tetrahedron*, **34**, (10), 1449-52, 1978.
- 60) Vigneron, J.P. et al., *Tetrahedron*, **40**, (18), 3521-9, 1984.
- 61) Woo, P.W.K. et al., *Tetrahedron Letters*, **28**, 2617-20, 1971.
- 62) Yamada, Y. et al., *Agric. Biol. Chem.*, **40**, (7), 1437-8, 1976.
- 63) Yoneta, T. et al., *Belg.* **873 659**, 16 May 1979, C.A. **96**; 7082u

ESPECTRO DE INFRAROJO

ESPECTRO 1

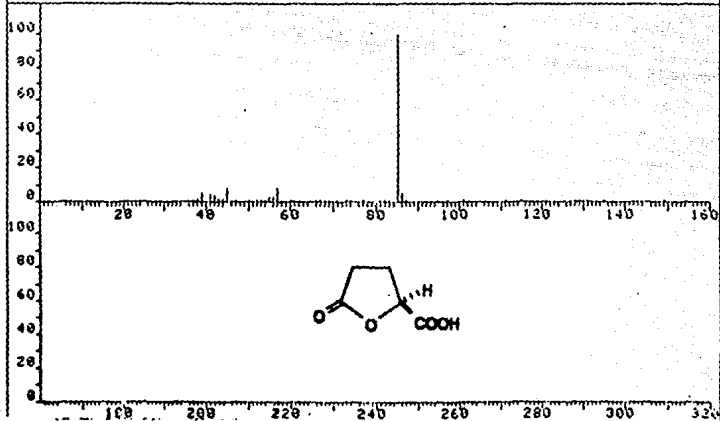


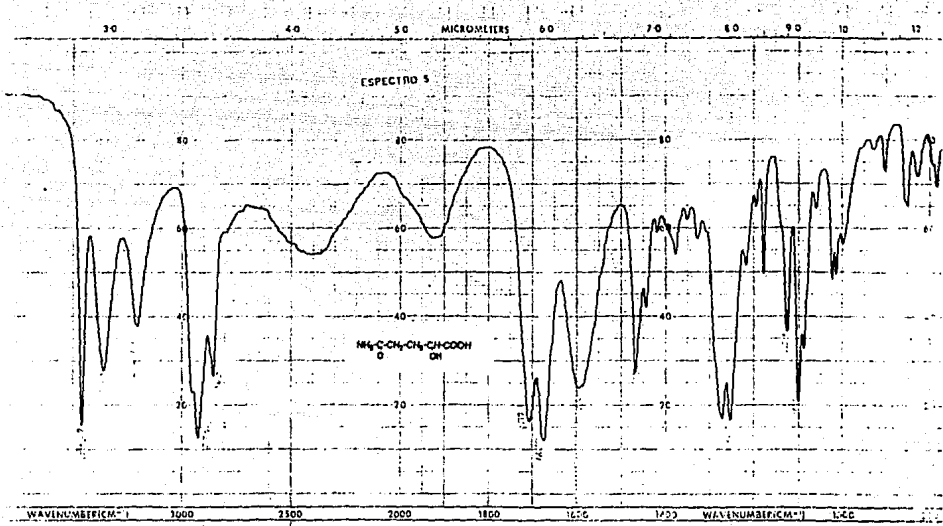
ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA



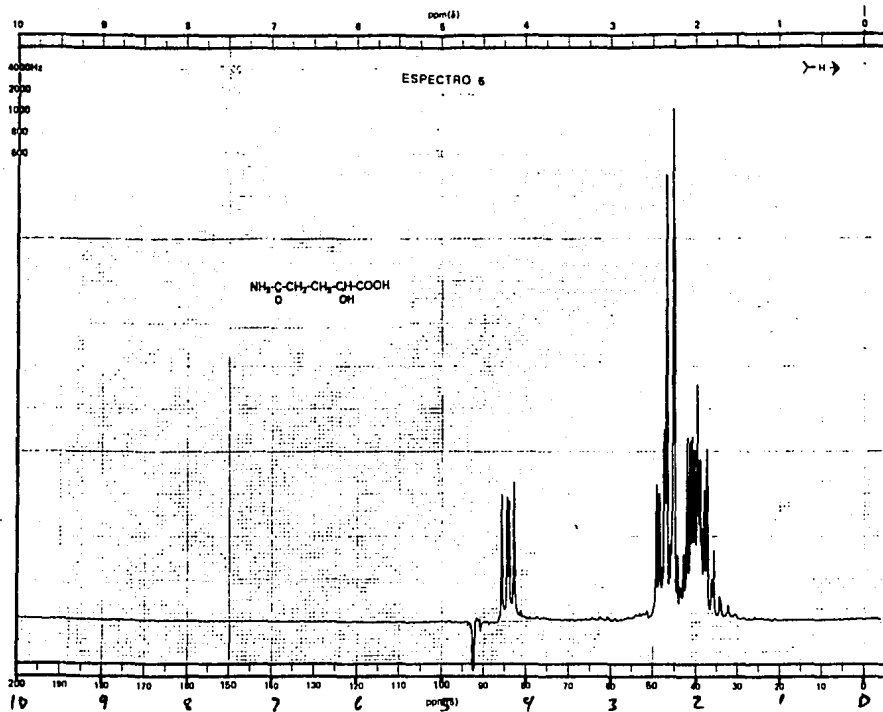
ESPECTRO No. 4

PR: 5067	SPECTRUM 25	RETENTION TIME 1.7
LACT 4: 35.2, 100.0	57.1, 7.8	45.1, 7.6 39.1, 5.4
LACT 4: 131.1, .1	135.1, .1	149.1, .1 185.2, .1
		PAGE 1 7 = 1.00

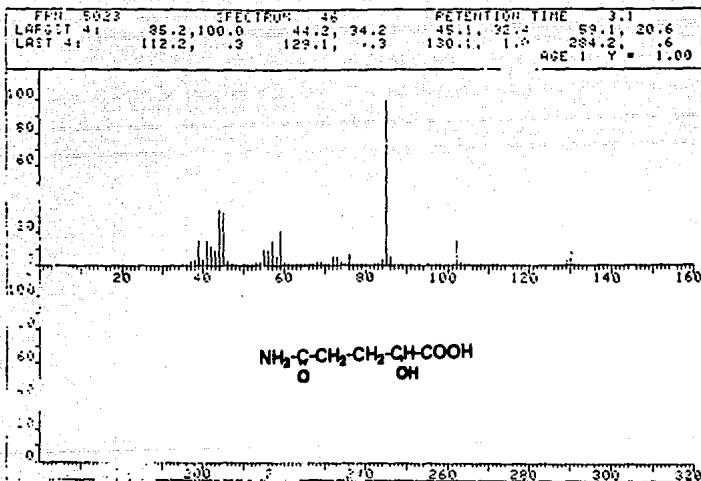




REMARKS	SOLVENT	ABSCISSA	SCAN 1	EXTENSION
	CONCENTRATION	REP. SCAN	RESPONSE	EXTENSION
	CELL PATH	HIGH LIMIT	SUPPRESSION	STUDY AREA
	REFERENCE	LOW LIMIT	TIME EXPOS	PL. SP. A.

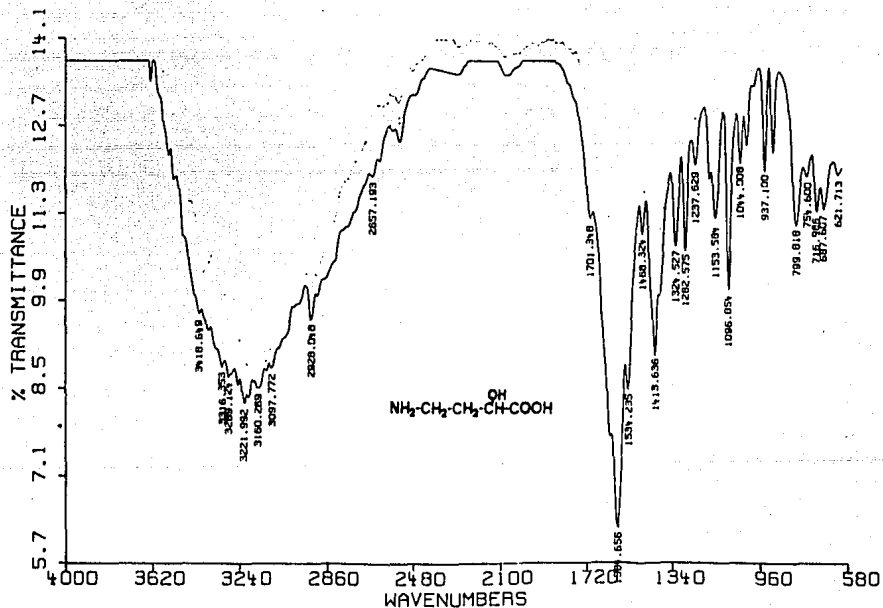


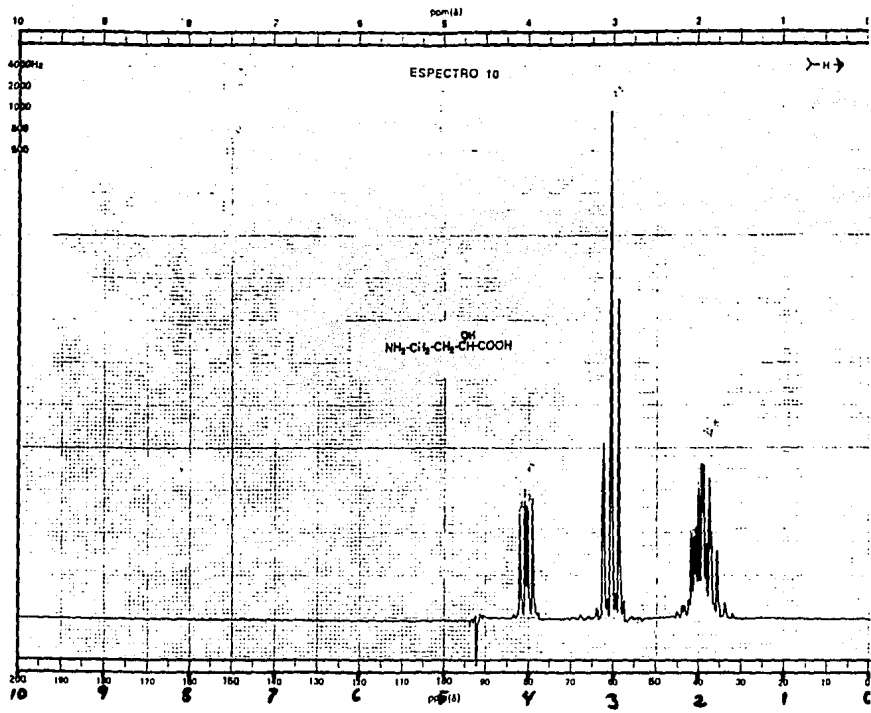
ESPECTRO No.7



ESPECTRO 9

DR. M. JIMENEZ PAST./KBR HABA-(185-90)





ESPECTRO 11

