

57
2ej



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

“Síntesis de D.L-Fenilglicina.
(Acido D.L-Aminofenilacético).”

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 :

ALFONSO EDUARDO VAZQUEZ TORRES



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1991



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.

I N D I C E.

1.-INTRODUCCION.3
2.-ANTECEDENTES.5
Efecto biológico de los D-aminoácidos5
Síntesis de -aminoácidos9
Conformación y configuración de -aminoácidos.16
Síntesis de D,L-fenilglicina17
Obtención de compuestos quirales19
3.-DISCUSION Y RESULTADOS27
4.-PARTE EXPERIMENTAL.32
5.-CONCLUSIONES.36
6.-BIBLIOGRAFIA.37

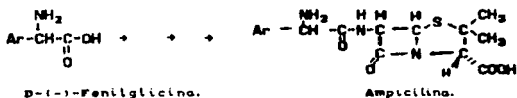
1.- INTRODUCCION.

Los aminoácidos son compuestos orgánicos que presentan dos grupos funcionales en su estructura: un ácido carboxílico y una amina.

Los α -aminoácidos se caracterizan por tener en un mismo carbono al grupo amino y al grupo carboxilo, lo que provoca un comportamiento químico muy especial.

En la naturaleza existen 20 α -aminoácidos llamados esenciales, porque invariablemente se encuentran al hidrólisis de una proteína. Las proteínas son las macromoléculas más abundantes en una célula viva y constituyen más del 50 % de su peso total. Las proteínas están constituidas por la combinación de 50 ó más unidades de los α -aminoácidos esenciales.

La α -fenilglicina no es un aminoácido esencial, pero la forma D-(-)-fenilglicina se utiliza para la síntesis de penicilinas modificadas (como la ampicilina).



Este aminoácido no se produce en México, por lo cual se tiene que importar, implicando un gasto muy fuerte para la industria farmacéutica.

Por ejemplo, de los años 1988 a 1990 las importaciones de D-(-)- α -fenilglicina costaron al país \$5,131,466.00 dólares americanos, al importarse un volumen de 280,229.0 Kg. Así mismo la ampicilina importada (4,065.2 Kg) tuvo un costo de \$745,085.00 dólares americanos.⁴

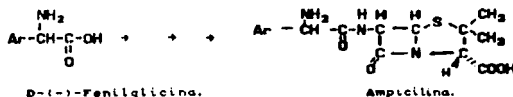
1.- INTRODUCCION.

Los aminoácidos son compuestos orgánicos que presentan dos grupos funcionales en su estructura: un ácido carboxílico y una amina.

Los α -aminoácidos se caracterizan por tener en un mismo carbono al grupo amino y al grupo carboxilo, lo que provoca un comportamiento químico muy especial.

En la naturaleza existen 20 α -aminoácidos llamados esenciales, porque invariablemente se encuentran al hidrólisis de una proteína. Las proteínas son las macromoléculas más abundantes en una célula viva y constituyen más del 50 % de su peso total. Las proteínas están constituidas por la combinación de 50 ó más unidades de los α -aminoácidos esenciales.

La α -fenilglicina no es un aminoácido esencial, pero la forma D-(-)-fenilglicina se utiliza para la síntesis de penicilinas modificadas (como la ampicilina).



Este aminoácido no se produce en México, por lo cual se tiene que importar, implicando un gasto muy fuerte para la industria farmacéutica.

Por ejemplo, de los años 1988 a 1990 las importaciones de D-(-)- α -fenilglicina costaron al país \$5,131,466.00 dólares americanos, al importarse un volumen de 280,229.0 Kg. Así mismo la ampicilina importada (4,065.2 Kg) tuvo un costo de \$745,085.00 dólares americanos.⁴

El objetivo de esta tesis experimental es lograr la síntesis química total del aminoácido D-(-)-fenilglicina. Esto implica sintetizar la mezcla racémica D,L-fenilglicina; para después efectuar la resolución de la mezcla racémica y obtener así la D-(-)-fenilglicina.

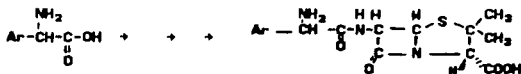
Por esta razón, consideramos que el objetivo de esta tesis contribuye para la solución de un problema importante para la comunidad, al lograr una síntesis que sea rentable y emplee, de preferencia, materias primas nacionales.

2.- ANTECEDENTES.

Efecto biológico de los D-Aminoácidos.

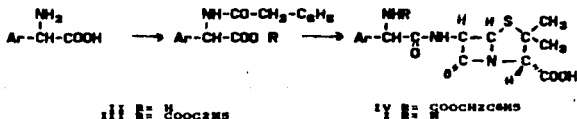
Como ya se mencionó, el objetivo de este trabajo es la obtención de D-(-)-Fenilglicina; que se usa en la fabricación de antibióticos, como la Ampicilina I.

La Ampicilina es una de las penicilinas más usadas contra muchas infecciones, por su actividad oral y por tener una buena potencia contra bacterias Gram-negativas.



I

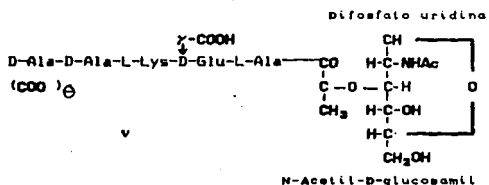
Para su síntesis⁶, primero se protege el grupo amino de la fenilglicina como derivado carbobenziloxi II. Este intermediario es convertido con una mezcla de anhídrido carbónico, y un poco de cloroformato de etilo en III, este último se condensa con el ácido 6-aminopenicilámico, para dar la amida IV. Por hidrogenación catalítica se remueve el grupo protector, resultando la ampicilina I.



Durante la investigación bibliográfica, requerida para este proyecto; surgió la siguiente observación: Para la fabricación de la mayoría de los antibióticos, se utilizan D-aminoácidos. La pregunta obligada es ¿Por qué?.

La respuesta está en la misma estereoquímica de los aminoácidos y la reactividad que esta les provoca. Es decir en el mecanismo de acción del antibiótico sobre la pared celular.

Los D-aminoácidos juegan un papel muy importante en la formación de paredes celulares y otras estructuras de muchas bacterias. Por ejemplo; a partir de *Staphylococcus aureus*², por tratamiento con penicilina se logró aislar un nucleótido de uridina V que contiene un residuo peptídico; este nucleótido es precursor de la pared celular. De los 5 aminoácidos que forman el residuo peptídico, 3 son D-α-aminoácidos.



Así mismo, en bacterias del ácido láctico se encuentra por lo menos 90% del aminoácido D-aspártico formando la pared celular.

Ahora bien, sabemos que los antibióticos interfieren con la biosíntesis de paredes celulares, interactuando con los D-aminoácidos que las conforman. Su mecanismo de acción es ejemplificado con dos antibióticos muy simples: la penicilina y la D-cicloserina (oxamicina). Ambos contienen en su estructura una

unidad D-aminoácido que incorporan en la pared celular durante su crecimiento, logrando una interferencia estereoquímica para el desarrollo de la misma.

La D-cicloserina es conocida como un inhibidor competitivo en la síntesis de nucleótidos.⁶ Por la semejanza de su estructura con el racemato de la alanina, inhibe a la enzima que cataliza la unión peptídica D-alanil-D-alanina.

En la figura 1 se puede observar a la estructura A correspondiente a la D-cicloserina,⁷ que es un anillo de 5 miembros. Mientras la D-alanina puede adquirir la configuración B, muy similar a A excepto que el átomo de N del anillo es reemplazado por un oxígeno del grupo carboxilato.

Así mismo, la L-alanina puede asumir la conformación C reteniendo conformación general de la D-cicloserina, especialmente el grupo amino protonado y el átomo de oxígeno del carbonilo. La diferencia es que en C un grupo metilo ocupa la posición de un átomo de hidrógeno en la D-cicloserina. Con la L-cicloserina el arreglo de su conformación presenta diferencias mayores y por ello no se puede confundir con el racemato de alanina.

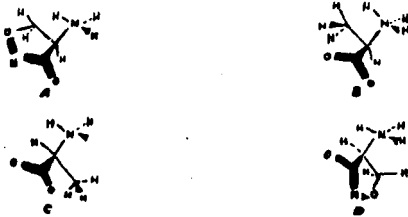
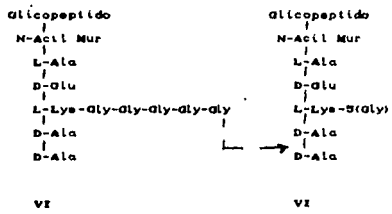


Figura 1.-Conformación de los sustratos del racemato alanina.
 a.-D-cicloserina; b.-D-alanina; c.-L-alanina y d.-L-cicloserina (no sustrato).

Con respecto a la penicilina,⁷ se sabe que actúa sobre la

reacción final en la biosíntesis del peptoglicano lineal, es decir en un paso final de la formación de la pared celular. Impide la formación de la unión entre dos unidades de VI por reacción de la cadena pentaglicina con el enlace peptídico terminal de la secuencia D-Ala-D-Ala-L-Lys. En esta transpeptidación una D-Ala se remueve por la enzima transpeptidasa, que es muy sensible a la penicilina; debido a la semejanza de estructuras entre el ciclo dipeptídico combinado de L-cisteína y D-valina de la penicilina, con el término D-Ala-D-Ala de la cadena.



En la figura 2, A representa al bipeptido D-Ala-D-Ala y B a la penicilina; como en el caso de a D-cicloserina se puede observar una semejanza en los sustratos. La distancia entre los dos átomos de nitrógeno es igual en ambas estructuras 3.3 Å. Así como entre el N' y el carbono del grupo carboxilato 2.5 Å.

La distancia entre N y el carbono del carboxilato es 5.4 Å en la ampicilina y 5.7 Å en el péptido alanil. En la penicilina la conformación esta arreglada por el sistema del anillo, por lo cual se puede postular que la enzima arregla a la cadena a la misma conformación.¹⁰

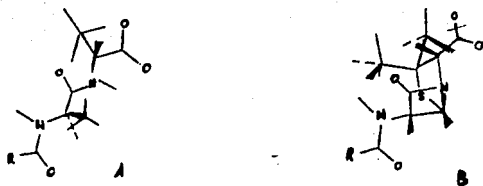


Figura 2.- A.-Dipeptido D-Ala-D-Ala es la continuación de la cadena peptídica. B.-Penicilina (R = C₆H₅CH₂ en benzilpenicilina).

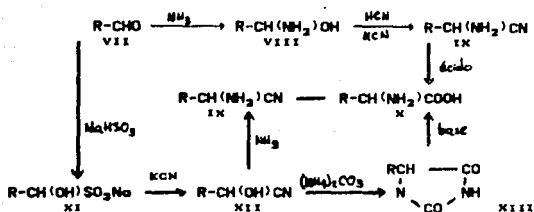
Así, el anillo β -lactama de la penicilina es usado como analogo del enlace peptídico. Se cree que ocurre una acilación en el sitio de transferencia formandose una penicilil-enzima.

Síntesis de α -aminoácidos.^{3,4}

Para la síntesis de α -aminoácidos, se pueden usar los siguientes métodos:

1) Síntesis de Strecker.

El aminoácido se prepara por la hidrólisis ácida del intermediario aminonitrilo IX, que se forma por la interacción de un aldehído VII primero con amoníaco y después con ácido cianhídrico.



Se puede aplicar a aminoácidos de diversas estructuras, pues R puede ser $-\text{CH}_3$ hasta cadenas más complejas. Los dos inconvenientes que se presentan son: primero la alta toxicidad del ácido cianhídrico y segundo que, dependiendo del grupo R, en algunas ocasiones se obtienen bajos rendimientos. Por ello Zelinsky y Stadnikoff introdujeron una modificación. Ellos usaron cianuros de metales alcalinos y sales de amonio, en lugar de ácido cianhídrico y amoniaco respectivamente para convertir el aldehído en el aminonitrilo XI. Cuando se utiliza bisulfito de sodio, se forma el compuesto de adición bisulfítica XI, que tratado con cianuro produce la cianhidrina XII con un mejor rendimiento.

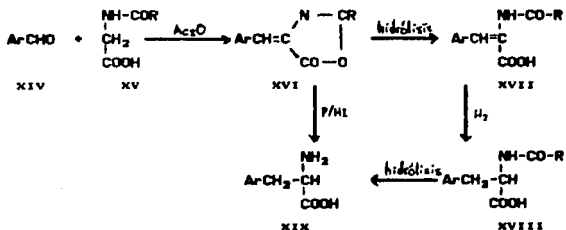
Pinner y Spilker obtuvieron la 5-alquilhidantoína XIII por digestión de la correspondiente cianhidrina XII con urea y ácido clorhídrico.

La hidrólisis alcalina de XIII produce el aminoácido X con buen rendimiento. En 1934 Bücherer demostró que las 5-hiantoínas pueden prepararse con buen rendimiento calentando el aminonitrilo o la cianhidrina con carbonato de amonio.

2) Síntesis por azolactonas de Erlenmeyer.

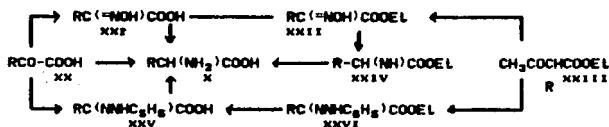
La azolactona XVI se prepara fundiendo una mezcla de un aldehído aromático y una acilglicina e.g. ácido N-benzilglicina XV en una solución de anhídrido acético con un agente condensante. Luego de una hidrólisis con alcali seguida de una hidrogenación, se obtiene con buen rendimiento el aminoácido N-acilado XVIII, este último se transforma en el aminoácido libre XIX, por simple hidrólisis.

Calentando la azolactona XVI con fósforo rojo y ácido yodhídrico, se logra obtener el aminoácido XIX en un solo paso.



3) Aminación reductiva.

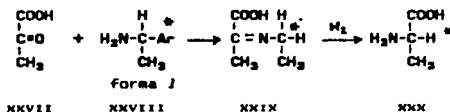
Este método utiliza una reducción catalítica o química, de un α -oxima XXI o una fenilhidrazona XXV, que se obtiene por la adición de un exceso de hidroxilamina o fenilhidrazina respectivamente sobre un α -cetoácido XX.



Por la dificultad de conseguir el α -cetoácido XX, es mejor preparar primero la oxima XXI; tratando un ester acetoacético 2-alquil ó 2-arilo XXIII (donde R es un grupo alquil o aril) con nitrito en solución de H_2SO_4 , saponificando al ester α -oximino XXVI. se puede preparar la fenilhidrazona XXV por la acción de cloruro de fenildiazonio sobre el ester acetoacético 2-sustituido XXIII en un sistema catalizado con etóxido de sodio, seguida por saponificación del ester intermediario XXVI y posterior hidrogenación. La reducción de XXI o XXV para dar el aminoácido puede ser por medio de agentes químicos reductores como Zn, HCl; Na(Hg)-HCl , ó Al(Hg)-HCl .

Una variación a este método fue investigada por Knoop y Desterlin: La hidrogenación catalítica de una mezcla del α -cetoácido y amoniaco para generar el aminoácido X.

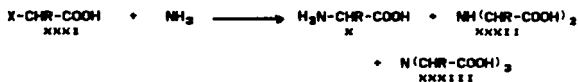
Otra vía similar es convertir el α -cetoácido XXVII en ácido α -iminocarboxílico XXIX. Por reacción con una amina puede efectuarse la síntesis asimétrica usando una amina ópticamente activa XXVIII. Por ejemplo:



Con un rendimiento de 91% de forma I y 9% de forma d.

4) Aminación de α -halogenoácidos

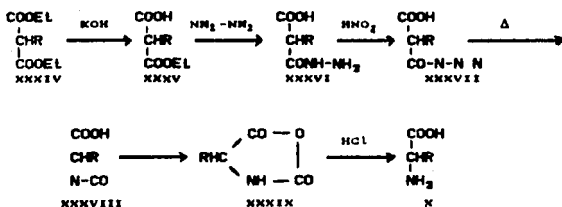
Se puede obtener el α -aminoácido X por la acción de amoníaco acuoso o etanólico sobre el correspondiente ácido α -cloro o α -bromo-carboxílico.



A menor cantidad de amoníaco empleado disminuye la cantidad de producto pues se forman más las aminas terciaria y secundaria. Las condiciones óptimas para esta amonólisis son de 40 a 60 C con una solución acuosa de 10 a 12 moles de amoníaco y 4 a 5 moles de carbonato de amonio por cada mol de α -halogenoácido.

5) Aminación vía transposición molecular.

Esta reacción utiliza la transposición de ácidos azídicos a isocianatos, con la eliminación de nitrógeno, puede resumirse así:

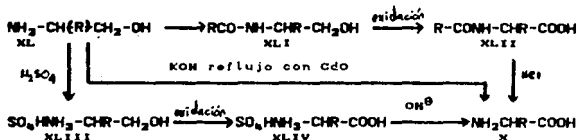


En esta secuencia, se presenta la transposición del ácido alquil- o aril-malonilazídico XXXVII (donde R puede ser un grupo alquilo o arilo) al correspondiente isocianato por calentamiento en solución de éter o cloroformo. Posteriormente XXXVIII se cicliza

para dar el anhídrido del aminoácido N-carbónico XXXIX, este último por hidrólisis ácida forma el aminoácido X.

6) Oxidación de aminoalcoholes.

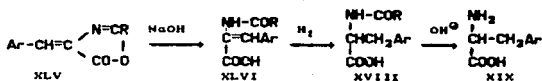
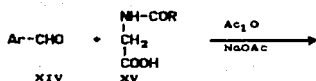
Es una ruta muy simple para la obtención de aminoácidos, pero de menor importancia por el número tan limitado de aminoalcoholes disponibles. La conversión del grupo alcohol a carboxílico se lleva a cabo con $K_2Cr_2O_7$ u otro agente oxidante, protegiendo el grupo amino; usualmente con un grupo ftaloil o benzoil.



Se puede observar en el esquema, que existe una alternativa más eficiente para la oxidación del aminoalcohol con hidróxido de potasio acompañado de óxido de cadmio.

7) Condensación de un aldehído con un grupo metileno activo.

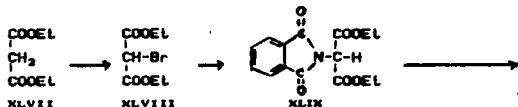
Este método se usa para preparar α -aminoácidos aromáticos como fenilalanina, tirosina y triptofano, usando una azolactona insaturada XLV, obtenida por la condensación de un aldehído aromático XIV con acilglicina. La hidrólisis parcial de la azolactona con álcali da un acil-dehidroaminoácido XLVI, que se convierte al acil-aminoácido XVIII por tratamiento con amalgama de sodio o hidrogenación. Por hidrólisis alcalina de XVIII se obtiene con buen rendimiento el aminoácido XIX.

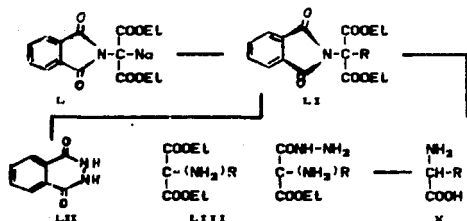


B) Condensación con ésteres aminomalonícos N-sustituídos.

Esta reacción involucra la condensación inicial de un haluro de alquilo con un éster aminomaloníco N-sustituído, se pueden obtener aminoácidos de diversas estructuras. Sørensen fue el primero en aplicar este método al utilizar N-ftalimidomalonato de etilo XLIX como intermediario principal. Este compuesto se prepara por bromación de un éster malónico XLVII, seguido de ftalamida de sodio en una síntesis de Gabriel.

Al compuesto XLIX se agrega sodio metálico para formar la sal sódica L, que se condensará con un haluro de alquilo para formar LI. Para formar el aminoácido X, se tienen dos rutas: la hidrólisis prolongada con ácido mineral, o por condensación con hidrazina seguida de hidrólisis de la mezcla de los productos LIII.

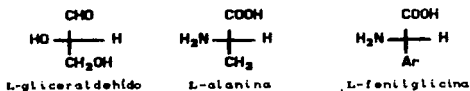




Conformación y configuración de α -aminoácidos.

Al observar la constitución de los α -aminoácidos, es decir observar "que átomo está unido a cuáles"; se observa que tres de los cuatro átomos que van enlazados al carbono α -asimétrico son fundamentalmente los mismos. La fórmula general es: $\text{R}-\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$.

Exceptuando a la glicina en que el grupo R es un H, y por ello es un aminoácido no asimétrico; todos los demás son ópticamente activos. Los que han sido obtenidos por la hidrólisis de proteínas, pertenecen a la fórmula L configuracionalmente relacionados con el L-gliceraldehído.



Los prefijos *dextro* y *levo* o los signos (+) y (-) se usan para indicar rotación en el polarímetro: si es en la dirección en que se mueven las manecillas del reloj (+) o *dextrógira*; si es en el sentido contrario (-) o *levógira*.

Como es obvio no existe una relación entre el símbolo D ó L y la rotación óptica particular de cada compuesto.

Las diferencias en la configuración y la conformación de las moléculas tienen consecuencias de tipo estático y dinámico en las propiedades de tales compuestos. Estáticas: volumen molar; acidez, basicidad, o absorción en u.v., infrarrojo, R.M.N., etc. Termodinámicas: diferencias en entalpía ΔH , entropía ΔS , energía libre ΔG , etc.. La propiedad dinámica más importante es la reactividad de la molécula.

De las consecuencias dinámicas de la estereoquímica, en sistemas biológicos tenemos las relaciones enzima/sustrato enzimático, anticuerpo/antígeno y droga/receptor.

Síntesis de D,L-Fenilglicina.

Para la síntesis del α -aminoácido D,L-Fenilglicina, en este trabajo se utilizó el método de Strecker que consiste en usar como sustrato a un aldehído, en nuestro caso benzaldehído. La ventaja de utilizar la reacción de Strecker, consiste en que se pueden utilizar varias modificaciones para llegar al α -aminoácido. Todas estas rutas, se comentan más adelante.

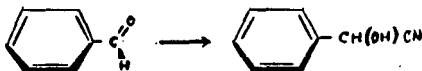
La α -fenilglicina, por ser un α -aminoácido, tiene la característica de presentar dos estereoisómeros ópticos: la forma *dextro*- y la forma *levorrotatoria*. Nuestro objetivo inicial fue obtener en forma cuantitativa la forma *levo* o D(-)-fenilglicina, pues es la que presenta actividad biológica y por ello se utiliza en la

producción de antibióticos.

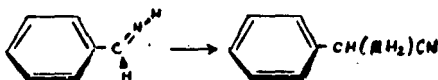
El inconveniente de usar la síntesis de Strecker es que no es una reacción estereoselectiva, es decir no se puede inducir la formación de uno solo de los dos estereoisómeros.²

Cuando analizamos la estructura molecular del benzaldehído, se observa que es una molécula plana, ya que tanto los carbonos del anillo aromático como el carbono carbonílico tienen una hibridación sp^2 (trigonal plana). Desde el primer ataque que sufre el carbono del carbonilo, se define la estereoquímica de la reacción. Este primer ataque es la entrada del nucleófilo: CN^- sobre el carbono del carbonilo para formar la cianhidrina correspondiente.

Si la reacción fuera de inducción asimétrica, el ataque al carbono del carbonilo se podría dirigir por un solo lado, por arriba o por debajo del plano de la molécula. Puesto que no es así, se obtiene una mezcla en partes iguales de las cianhidrinas D y L.



En una modificación del método de Strecker no es necesario formar la cianhidrina para obtener el aminonitrilo, el mecanismo de esta reacción sugiere la formación de un grupo imino como intermediario. El paso clave que define la estereoquímica de la reacción es el ataque del nucleófilo CN^- sobre el carbono del grupo imino.



Como se puede observar el carbono del grupo imino también posee hibridación sp^2 y una configuración plana. El ataque de grupo CN es igualmente probable por ambos lados del plano de la molécula, resultando una mezcla en igual proporción de ambos estereoisómeros.

Por todo lo anterior, se debe resolver el α -aminonitrilo formado; es decir separar sus dos formas ópticamente activas. Ya una vez separadas sus dos formas, se hidroliza cada una por separado para obtener cada forma del α -aminoácido.

Así, para separar a los dos estereoisómeros, se utilizó Ácido (+)-tartárico, para formar dos sales diastereoméricas con el α -aminofenilacetnitrilo. Los diastereoisómeros poseen propiedades físicas diferentes y aprovechando una de ellas, su diferencia de solubilidad, se pueden separar. El (+)-*d*- α -aminofenilacetnitrilo-*d*-hemitartrato es insoluble en metanol y de esta forma se separa y purifica.

Ya separadas y purificadas las sales diastereoisoméricas, estas se hidrolizan para obtener D(-)-Fenilglicina y L(+)-Fenilglicina.

Obtención de compuestos quirales.¹¹

Dentro de los métodos de obtención de compuestos quirales, se presentan los siguientes:

1.-A partir de fuentes naturales.

El método más confiable y barato para obtener materia prima quiral de alta calidad, ha sido por aislamiento a partir de fuentes naturales.

2.- Racemización con sales diastereoisómeras

El segundo método es usando sales diastereoisoméricas, y es

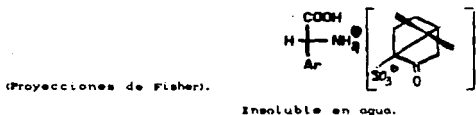
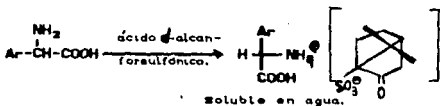
el más común para separar racematos.⁶

En raras ocasiones se logra una separación instantánea, por simple recristalización con agua; como es el caso del monohidrato de *d,l*-histidina o con *d,l*-treonina. Así, la resolución por recristalización solo es posible cuando se tiene la mezcla de diastereoisómeros en la cual los componentes presentan diferencias de solubilidad.

Las mezclas diastereoisoméricas de un aminoácido se obtienen por la adición de la cantidad equivalente de una base ópticamente activa a los racematos del aminoácido N-protector. Previniendo que el grupo N-protector pueda eliminarse fácilmente después de la racemización.

Para una rápida resolución, el agente resolvente debe formar una sal muy estable con uno de los isómeros del racemato, para así poder purificar adecuadamente esta sal. Si un agente resolvente es conocido en sus formas antipodales, cualquiera de estas puede ser utilizada para aislar uno u otro compuesto del racemato y resolverlo.

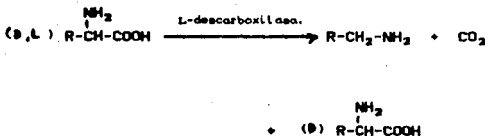
Los racematos de ésteres de α -aminoácidos pueden separarse con agentes resolventes ácidos (ac. canfórico, ac. alcanforsulfónico, ac. tartárico, etc.). Pero no es muy satisfactorio para algunos ésteres, que en estado libre pueden sufrir cierre de un anillo o polimerización.



Algunas mezclas diastereoisoméricas no iónicas derivadas de α -aminoácido, pueden ser intermediarias en la resolución. La separación puede ser preparada por introducción de un *l*-metoxiacetil, por una reacción Schotten Baumann. Los aminoácidos racémicos del tipo *l*- y *d*-mandélico, como la fenilglicina; pueden prepararse por este método.

Se pueden realizar separaciones por partición de *N*-acetil y *N*-benzoyl-*d,l*-aminoácidos con columnas de almidón (Starch). Pero este procedimiento se usa solo con componentes racémicos que contienen ciclos. Las otras limitaciones están dadas por las mismas técnicas cromatográficas aplicadas.

El método más atractivo para la resolución es con materiales biológicos estereoespecíficos, que involucran la separación de mezclas antipodales que implican el uso de enzimas. Las más comunes son aminoácido-oxidasas.



3.- Transformación asimétrica.

En la actualidad se prefiere utilizar una transformación asimétrica, por las ventajas que presenta en cuanto al rendimiento final. Las transformaciones asimétricas son clasificadas de primer o segundo orden dependiendo del equilibrio entre los enantiómeros o epímeros.

En una transformación de primer orden, las condiciones termodinámicas son controladas para obtener un epímero en exceso.

En la de segundo orden, uno de los epímeros maneja el equilibrio para producir un exceso de él mismo. El segundo proceso es más atractivo, y debe hacerse notar que existe un cambio en la configuración que "transforma" la mezcla de epímeros obteniéndose en exceso uno de ellos.

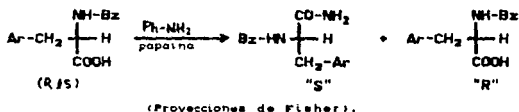
Por ejemplo¹², una mezcla racémica (50%-50%) del ester D,L-fenilglicinato de metilo se agita con benzaldehído y ácido D-tartárico para dar 85% del D-tartrato de D-fenilglicinato de metilo .

4.- Resolución cinética.

El cuarto método para obtención de compuestos quirales, es por resolución cinética. Se cuentan muchos ejemplos (tanto químicos

como bioquímicos). La eficiencia de cada proceso depende de la relación de cada enantiómero con el reactivo quiral y el máximo rendimiento de un isómero no es mayor a 50% .

Las enzimas purificadas pueden ser utilizadas como reactivos para resoluciones cinéticas.



5.- Inducción asimétrica

Las síntesis asimétricas, que es el quinto método, son las más estudiadas hoy en día, por que con ellas se pretende dirigir la síntesis química hacia la formación de un solo estereoisómero o cuando menos el exceso de uno de ellos.

Para detectar y cuantificar la presencia de un enantiómero, hacemos uso de la rotación óptica, que es una propiedad determinada experimentalmente, medida en un polarímetro.

El polarímetro funciona aprovechando una propiedad electromagnética de la luz. La luz contiene un número infinito de vibraciones en planos transversales. Si la luz es polarizada, todas las vibraciones están en un solo plano que contiene la dirección de transmisión.

La rotación de la luz polarizada en un plano, puede ser desviada al pasar por un cuerpo con actividad óptica; el número de grados que se desvía es una propiedad específica de cada compuesto y se designa por rotación óptica.

Al valor leído directamente en el aparato se le denomina rotación óptica; pero el valor reportado en la literatura es llamado rotación específica, pues debe ser reportado en condiciones específicas:

$$[\alpha] = \frac{\alpha}{d \cdot l}$$

$[\alpha]$ es la rotación específica.

α es la rotación leída.

d es la concentración del compuesto medida (g /cm).

l es la longitud del tubo, que contiene al compuesto.

La eficiencia de una síntesis asimétrica, está dada por la pureza óptica (p.o.) del producto obtenido; también definida como exceso enantiomérico (e.e) o exceso diastereoisómero (d.e) según sea el caso.

$$p.o. = e.e = \frac{[\alpha]}{[\alpha]_m} \times 100.$$

$[\alpha]$ es la rotación específica, la rotación leída para el producto.

$[\alpha]_m$ es la rotación del producto puro.

Así: % del enantiómero minoritario = $(100 - e.e.) / 2$

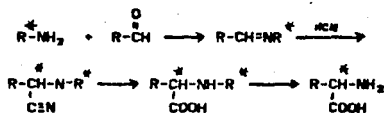
% del enantiómero predominante = $(100 + e.e.) / 2$

El principio básico para definir una síntesis asimétrica es: "La conversión de grupos proquirales a grupos quirales"¹⁹. Se pueden clasificar de la forma siguiente:

- Uso de la quiralidad presente.
- Transferencia de la quiralidad.
- Auxilio o ayuda quiral.
- Catálisis quiral

a) Uso de la quiralidad presente. Consiste en usar un sustrato con actividad óptica, de tal forma que con la ayuda de un centro quiral se generen más centros quirales. $A^* \longrightarrow Z^{**}$

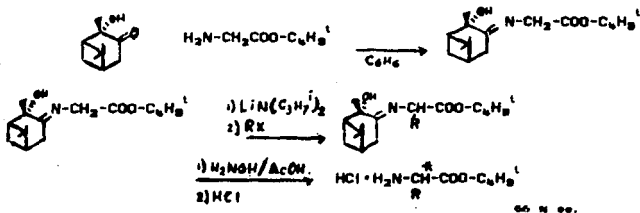
Ejemplo:



b) Transferencia de la quiralidad, ya sea por inmovilidad o transposición.

En una transferencia por inmovilidad, el sustrato inicial posee una quiralidad que pierde para formar un nuevo carbón asimétrico. $A + B^* \longrightarrow Z^*$

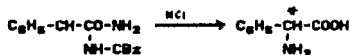
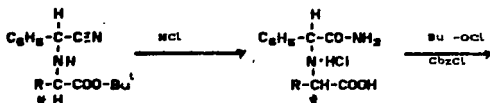
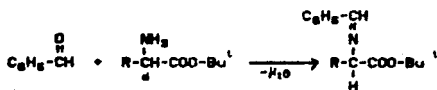
En cambio en una transposición, la quiralidad que posee el sustrato inicial es transferida a un centro proquiral



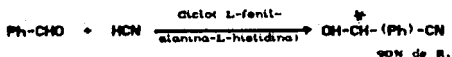
c) Auxilio o ayuda quiral. Se parte de un sustrato sin actividad óptica y se forma un complejo con actividad óptica, que sea susceptible de cambiar un grupo de tal forma que se obtiene el producto deseado con actividad óptica.



Ejemplo:



d) Catálisis quiral. Con este método se obtiene un producto quiral a partir de reactivos no quirales, con ayuda de un catalizador quiral. A diferencia del método de auxilio quiral, el catalizador no forma un complejo estable y se usa en cantidades catalíticas.



3.-DISCUSION Y RESULTADOS.

Tal como fue planteado en el objetivo inicial de esta tesis, un interés primordial es usar materias primas nacionales para el presente trabajo; por ello se decidió utilizar benzaldehído como materia de partida. Seleccionamos la síntesis de Strecker como ruta sintética, por dos razones: a) por que también utiliza un aldehído como sustrato inicial, y b) por las diversas alternativas que presenta.

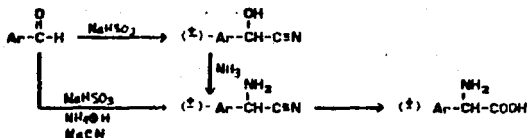
La primer alternativa propuesta fue sintetizar la *d,l*-cianhidrina del benzaldehído, por medio del compuesto de adición bisulfítica del benzaldehído y la adición de HCN sobre éste. Una vez obtenida la cianhidrina se hace reaccionar con amoníaco gaseoso y así se obtiene el compuesto clave *d,l*- α -aminofenilacetnitrilo.¹⁶

Para producir este mismo α -fenilacetnitrilo, se reportan más opciones, que coinciden en mezclar en un solo paso y a temperatura ambiente Benzaldehído, NH_4Cl , NaHSO_3 y NaCN.^{15,16,17,18}

Después de que fue ensayada la obtención del aminonitrilo a través de una aminación de la cianhidrina correspondiente, se buscó un nuevo camino, debido a los bajos rendimientos obtenidos.

Con base en la bibliografía² se pensó en obtener el aminonitrilo en un solo paso; adicionando al benzaldehído bisulfito de sodio e hidróxido de amonio juntos. El producto se caracterizó por espectroscopía de IR y R.M.N. El tiempo de reacción es muy corto (2 hr), con un rendimiento siempre mayor a 80%.

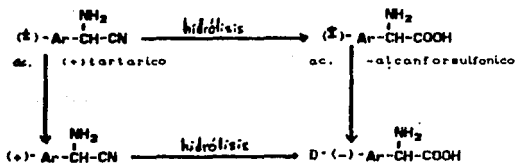
La hidrólisis directa de este α -aminofenilacetnitrilo produce el aminoácido α -fenilglicina.



Para la obtención de α -fenilglicina con actividad óptica, se puede trabajar en dos niveles de la ruta sintética. Uno es resolver o separar a nivel de α -fenilacetronitrilo;^{19,20} así al hidrolizar los aminonitrilos resueltos, se obtienen los aminoácidos con actividad óptica.

Para resolver a nivel de aminonitrilo se usa comúnmente ácido (+)-tartárico^{21,22}, para formar hemitartratos separables como sales diastereoisómeras, dadas sus diferencias de solubilidad en alcohol. Esta fue la opción que se utilizó en la presente tesis.

La otra alternativa es separar a nivel de producto final, es decir, separar o resolver al aminoácido. Para ello se utiliza ácido *d*-alcanforsulfónico.^{23,24}



Resultados.

La primera reacción ensayada, que fue la obtención de la cianhidrina correspondiente al benzaldehído, dió resultado positivo, pues se obtuvo con 72.6 % de rendimiento. El único inconveniente de esta reacción es su alta toxicidad. Se comprobó que el rendimiento máximo, se lograba cuando se adiciona NaCN a 0°C y pH=1. Así, a este pH el NaCN se convierte en HCN altamente tóxico.

Por ello eliminamos esta ruta y se trabajó en la optimización de la reacción en que se obtiene α -aminofenilacetnitrilo sin aislar la cianhidrina.

Para la segunda ruta sintética, se eliminó el problema de la posible transformación de NaCN en HCN trabajando en condiciones básicas. Tabla I.

Resultados para la obtención de aminonitrilo.

Tabla I. Influencia del pH.

pH al agregar NaCN	Rendimiento
6	84 %
3	20 %
1	3 %

Para optimizar el rendimiento de esta reacción, se variaron las cantidades de reactivos en la forma que indican las tablas II y III.

Tabla II Influencia de la variación de NaHSO_3 .

Benzaldehído	NH_4OH	NaHSO_3	Rendimiento
5 g.	10 ml.	3.5 g.	65 %
5 g.	10 ml.	4.0 g.	80 %
5 g.	10 ml.	5.0 g.	84 %
5 g.	10 ml.	6.0 g.	84 %

Tabla III variación en la concentración de NH_4OH .

Benzaldehído	NH_4OH	NaHSO_3	Rendimiento
5 g.	10 ml.	4.0 g.	80 %
5 g.	8 ml.	4.0 g.	80 %
5 g.	6 ml.	4.0 g.	80 %
5 g.	5 ml.	4.0 g.	80 %

Así podemos concluir que para la obtención de α -aminofenilacetnitrilo, se obtiene el mayor rendimiento con 5.0 g. de NaHSO_3 y 10 ml. de NH_4OH , por cada 5 g. de benzaldehído.

La tercera reacción que se buscó optimizar fue la hidrólisis de (D,L)- α -fenilacetnitrilo, que puede ser en condiciones ácidas (tabla IV) o básicas (tabla V)

Tabla IV. Hidrólisis en condiciones ácidas.

HCl	Rendimiento
6 N.	63 %
4 N.	48 %
3 N.	22 %

Tabla V. Hidrólisis en condiciones básicas.

NaOH	Rendimiento
2.5 M.	80 %
5 M.	60 %

Hasta este momento se había logrado la síntesis química del aminoácido con un buen rendimiento global de aproximadamente 64.55 % con respecto al benzaldehído. Por ello se dió por concluído este paso y se trabajó en la optimización de la reacción de resolución con ácido tartárico. Para esto se probaron diferentes disolventes o mezclas de disolventes, obteniéndose los resultados mostrados en la tabla VI.

Tabla VI. Efecto del disolvente en la resolución de *d,l*- α -aminofenilacetnitrilo.

Disolvente	Rendimiento	R. óptico e e
Etanol.	42.5 %	71.1 %
Etanol-agua 10%	36.5 %	56.8 %
Etanol-agua 5%	90.0 %	31.9 %
Metanol.	42.5 %	65.8 %
Metanol-agua 10%	34.0 %	61.8 %
Metanol-agua 5%	69.8 %	45.6 %

Aunque el rendimiento óptico fue muy bajo, después de varias recristalizaciones se logró obtener una sal con buena pureza. $\alpha = +44$ comparado con $\alpha = +45$ que se reporta en la literatura.²⁷

Por una hidrólisis sencilla se obtiene α -fenilglicina con un 97.7 % de e.e. Es decir se conserva la actividad óptica después de hidrolizar la sal del *d*- α -aminofenilacetnitrilo.

4.- PARTE EXPERIMENTAL

El progreso de la reacción se siguió por c.c.f., utilizando cromatoplaques Merck de sílica gel 60 F 254 (0.25 mm de espesor y aproximadamente 2.5 cm. de ancho y 5 cm. de largo). Los espectros de infrarrojo fueron determinados en dos aparatos modelos 549-B y 1320 de Perkin-Elmer. Los espectros de R.M.N. fueron determinados en un espectrofotómetro V. EM-390.

La pureza del compuesto α -aminofenilacetoniitrilo se determinó en un cromatografo de gases marca Perkin Elmer 3920 con detector de ionización de flama. Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher-Jones y no estan corregidos.

Las polarimetrías fueron determinadas en un polarímetro Perkin-Elmer 241.

OBTENCION DE LA CIANHIDRINA DEL BENZALDEHIDO.

En un embudo de separación se colocó el aldehído 4.43 g con una solución saturada de NaHSO₃ (8.0 g en 20ml de agua), se agitó vigorosamente por 30 minutos, la reacción es exotérmica y la formación del compuesto de adición bisulfítica (formación de sólido cristalino) es inmediata. Se adicionó éter, se agitó, se separó la capa etérea, se evaporó el éter y se obtuvo un sólido amarillo (0.753 g., ácido *o*-toluico). A la capa acuosa se le adicionó 5.0 g de NaCN disuelto en 20 ml de agua, agitando vigorosamente durante 30 minutos, hasta que desaparece el sólido, se adicionó 50 ml de éter, extrayendo el producto, el último lavado se hizo con HCl 0.1N saturado con NaCl, se evaporó el éter dando 4.4788 g. de un líquido amarillo (72.62%).

Mandeloniitrilo²⁵ C₈H₇ON. Aceite amarillo. p.f. = -10°C y descompone a 170 °C.

El espectro de R.M.N. ^1H es el siguiente y coincide con el reportado en la literatura.²⁵ (ver Espectro 1).

Espectro de R.M.N. ^1H . (6 ppm, TMS como referencia interna).

(CDCl_3): Ar-H (5 H, s, 7.4 ppm); Ar-CH- (1 H, s, 5.4 ppm);
-OH (1 H, s, 4.2 ppm).

Espectro 2:

I.R. (pastilla KBr) (cm^{-1}): 3300, 1050 (OH); 2250 ($\text{C}\equiv\text{N}$);
1500, 820, 790 (Ar monosustituido).

OBTENCION DEL α -AMINOFENILACETONITRILLO.

En un matraz bola de dos bocas (en una se adapta un agitador mecánico y en la otra un embudo de adición) con capacidad de 500 ml se adicionan 10 g. de benzaldehído, 9 g. de NaHSO_3 , 20 ml de NaOH , 20 ml de agua y 5 ml de MeOH , se agitan a temperatura ambiente utilizando un agitador mecánico. Después de 15 minutos, se suspende la agitación y se enfría con baño de hielo, ya frío se agregan 5g. de NaCN y se continúa agitando por dos horas a temperatura ambiente. Se suspende la agitación y se extrae con cloroformo, se evapora el disolvente obteniéndose 5.23 g. de un sólido de color amarillo pálido (84% de rendimiento).

En cromatografía de Gases, reveló 84.15 % de pureza.

p.f. = 49 °C comparado con 55°C que es el teórico.²⁵

Los espectros de R.M.N. ^1H y de I.R. son los siguientes y coincide con lo reportado en la literatura.²⁵ (ver Espectro 3).

(CDCl_3): Ar-H (5 H, s, 7.6 ppm); Ar-CH- (1 H, s, 5.9 ppm);
 NH_2 (2 H, s ancho, 2.6 ppm).

Espectro 4:

I.R. (pastilla KBr) (cm^{-1}): 3300, 1600, 1090 (NH_2); 2200 ($\text{C}\equiv\text{N}$);
900, 700 y 690 (Ar- monosustituido).

OBTENCION DEL *d*-TARTRATO DE *d*- α -AMINOFENILACETONITRILLO.

En un matraz bola con capacidad de 100 ml se agregan 7.5 g. de ácido (+)-tartárico junto con 20 ml de MeOH, se disuelve el ácido (+)-tartárico con ayuda de un agitador magnético. Se agregan 6.1 g. de α -fenilacetnitrilo disueltos en 20 ml de MeOH. Se agita por 12 horas, se filtra con vacío, se lava con MeOH, se obtienen un polvo blanco.

p. f. = 150-152°C (no se reporta en la literatura).

$[\alpha] = + 31.9^\circ$ comparado con $[\alpha] = + 45^\circ$ ²⁷.

El espectro de infrarrojo es el siguiente y no se reporta en la literatura.

Espectro IR:

I.R. (pastilla de KBr) (cm⁻¹): arriba de 3300, 1600 anchas (COO⁻ ó OH); 3300 (NH₂); 1400 (N-C); 710 y 690 (Ar- monosustituido).

VARIACION DEL DISOLVENTE PARA LA OBTENCION DE *d*-TARTRATO DE *d*- α -AMINOFENILACETONITRILLO.

Se procede de la misma forma que se indica para su obtención en metanol, unicamente se varía el disolvente o la mezcla de disolventes.

OBTENCION DE D,L-FENILGLICINA.

En un matraz pera de una boca con refrigerante y con capacidad de 100 ml., se agregan 5 g. de D,L- α -aminofenil acetnitrilo, junto con 40 ml. de HCl 6N. Se calienta a ebullición y se mantiene un reflujo suave por 2 horas. Después de este tiempo la mezcla de reacción se decolora con carbón activado y se neutraliza a pH=7 para obtener un sólido de color blanco que corresponde a la D,L- α -fenilglicina.

p. f. = 290 °C

El espectro de infrarrojo es el siguiente y concuerda con la literatura.²⁶

Espectro 6:

I.R. (pastilla KBr) (cm^{-1}): 3000, 1600 anchas (COOH);
1520 (NH_2); 700 y 690 (Ar -monosustituido).

OTENCION DE α -FENILGLICINA OPTICAMENTE ACTIVA.

En un matraz pera de una boca y con capacidad de 100 ml., se agregan 5 g. de la sal (+)-hemitartrato de *D*- α -aminofenil-acetonitrilo. a continuación se añaden 40 g. de NaOH²⁶ disueltos en 40 ml. de agua (NaOH 2.5 M). Se calienta a refujo suave por 2 horas. La solución se filtra y se decolora con carbón activado, se neutraliza a pH=7 para obtener un sólido.

p.f.) 300 °C.

$[\alpha] = +155^\circ$ (c=1, HCl 1N)

Presenta un espectro de Infrarrojo idéntico a la D,L-fenilglicina.

5.-CONCLUSIONES.

1.-Se cumplió el objetivo principal de este trabajo, sintetizar D(-)-Fenilglicina.

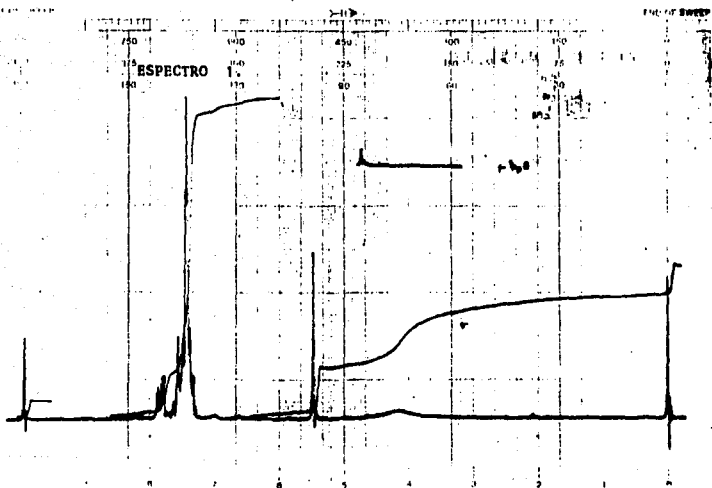
2.-Se logró obtener el intermediario clave de la síntesis: el D,L-aminofenilacetnitrilo, con un buen rendimiento 80-85 % en una reacción de un solo paso, con un tiempo de 2 horas.

3.-Se logró una separación de los dos enantiómeros del D,L-aminofenilacetnitrilo, al sintetizar con (+)-ácido tartárico la sal diastereoisómera (+)-*d*-tartrato de *d*-aminofenilacetnitrilo.

4.-Finalmente se obtuvo un aminoácido con actividad óptica al hidrolizar la sal (+)-*d*-tartrato de *d*-aminofenilacetnitrilo, con una solución de NaOH 2.5 M.

6.- BIBLIOGRAFIA

- 1).-Datos proporcionados por la SECOFI.
- 2).-Ogata, Y and Kawasaki, A. *J. Chem. Soc.* 325 -329 B. (1971).
- 3).-Greenstein, J.P. *Chemistry of amino acids.* John Willey. v 1. N.Y. (1962).
- 4).-Florkin, M and Stotz, E.H. *Comprehensive Biochemistry.* v6. 173-183. Elsevier Publishing. N.Y. (1965).
- 5).-Juaristi, E.; Eliel, E.L. et.al. *Tópicos modernos de estereoquímica.* p.14. Ed Limusa. Méx. 1983.
- 6).-Lednicer, D. *The Organic chemistry of drug synthesis.* John Wiley. v1. 413. N.Y. (1977).
- 7).-Bentley. *Molecular Asymmetry in Biology.* Academic Press. v1. N.Y. (1969)
- 8).-Strominger, J.L. et.al. *J. Amer. Chem. Soc.* 82. 998. (1960).
- 9).-Strominger, J.L.; et.al. "The Bacteria". v3. 426. Academic Press. N.Y. 1962.
- 10).-Wise, E.M and Park, J.T. *Procc. Natl. Acad. Sci.* 54. 1133. (1965).
- 11).-Morrison, J.D. *Asymmetry Synthesis.* v 1. 3-15. Academic Press. N.Y. (1983).
- 12).-Clark, J.C; et.al. *J. Chem. Soc. Perkins Trans.* 475 (1976).
- 13).-Eliel. *Etereochemistry of Carbons Compunds.* Mac. Graw Hill. N.Y. (1962).
- 14).-C.A., 76, 14114w (1972), patente, Czech, 138,625 (1968).
- 15).-C.A., 62, 10428e (1962), *Nippon Kagaku Zasshi.* 85, (8), 427. (1964).
- 16).-C.A., 83, 10875s (1975), patente, Japan, 75.01.016 (1969).
- 17).-C.A., 99, 176251r (1983), *Sint. Issled. Nitrosoedin. Aminokislot,* 1983, 38.
- 18).-C.A., 80, 95567d (1974) patente Hung, Teljes 7437 (1973).
- 19).-C.A., 69, 107076F (1969), patente, Hung, 154,410 (1968).

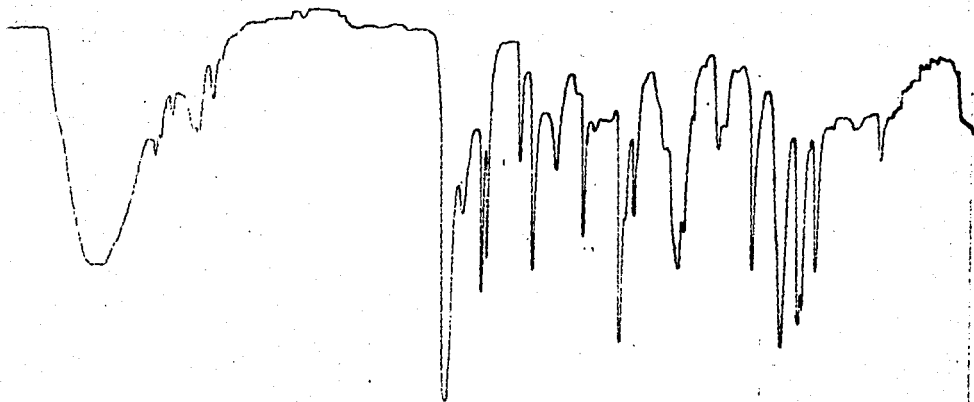


EM-390 90 MHz NMR SPECTROMETER

1000	SCANNING RATE	4.00	SWEEP TIME	3	min	MINUTES	0	SAMPLE	1.5 ml	CONCENTR	10%
1000	ENTER	10	SWEEP WIDTH	10	ppm	ZERO OFF	0.05	DATE	12-14		
1000	RF POWER	1.75	END OF SWEEP	0	ppm	SAMPLE TEMP	0	SOLVENT	CHCl ₃	SPECTRUM NO.	1224

Handwritten notes: *1.5 ml*, *10%*, *CHCl₃*, *12-14*, *1224*

ESPECTRO 2.



2000 1500 1000 500

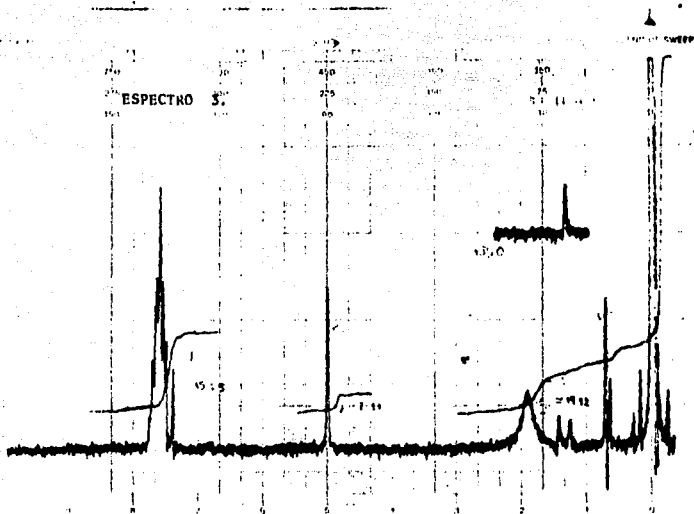
A-1-17^{cu}
LMB Santos

f'leomb
anal

13-8-89
1000

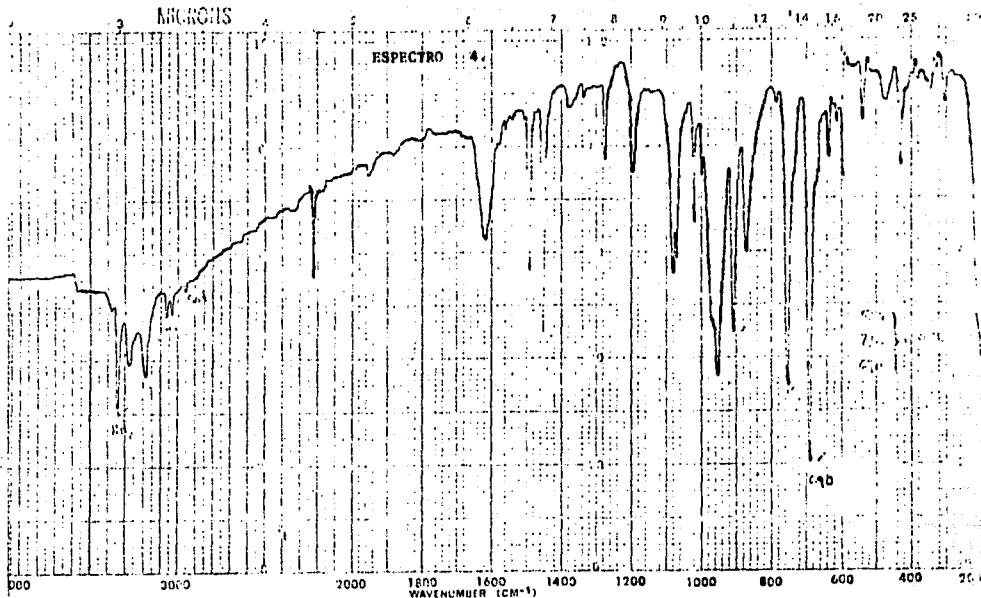
22 218

REMARKS



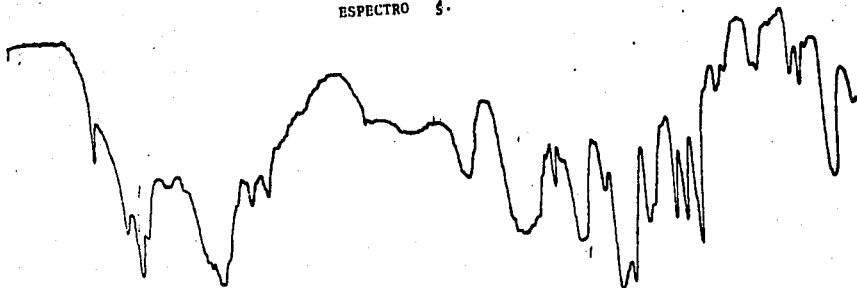
EM-300 90 MHz NMR SPECTROMETER

1000	EXCITATION AMP	5.0	SWEEP TIME	5	MR NUCLEUS	¹ H	SAMPLE: <i>Allylbenzylamine (10g)</i>
1000	CHIRP	0.15	SWEEP WIDTH	10	ppm ZERO REF	T.M.S	DATE: <i>2/12/67</i>
1000	RF POWER	0.75	END OF SWEEP	0	ppm SAMPLE TEMP	A	SOLVENT: <i>CDCl₃</i>
							SPECTRUM NO: <i>1414</i>



FAMILY <chem>O=C(N)C1=CC=CC=C1</chem> ✓ A-1 - 22 ORIGIN: Alfonso Viquez	SOLVENT <i>K-Br</i> CONC CELL PATH ATTENCT <i>etc</i>	SCAN <i>6x4</i> SLIT <i>w</i> OPERATOR <i>Chub</i> DATE <i>21-11-90</i> No. 5102-1000	SINGLE B... T.D. SPEED. ORD. EXP. T.CONST REF. No. <i>2V28</i>	REMARKS.

ESPECTRO 5.

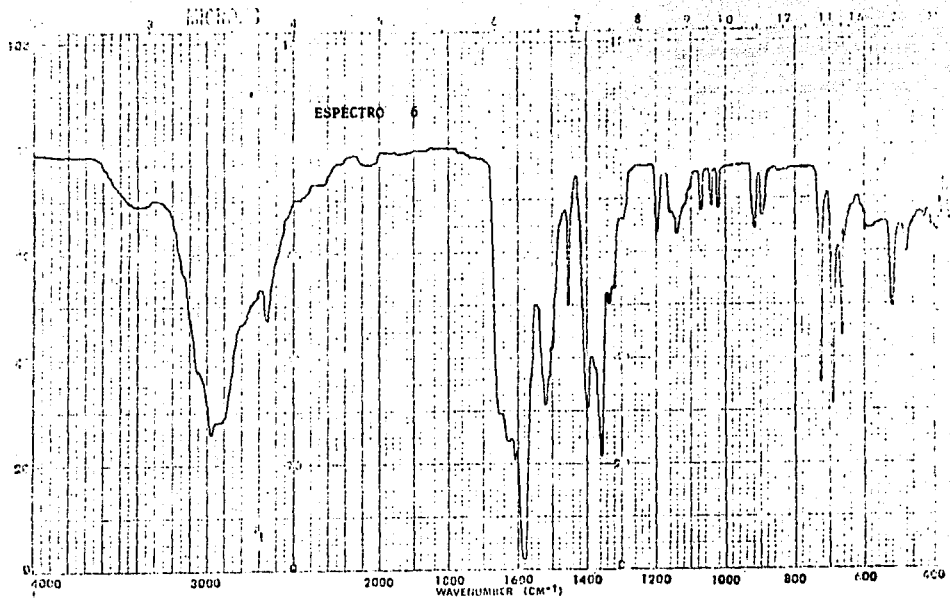


1000
1500
2000
3000
4000

KBr

12
3000-3500

1311



SAMPLE <i>Am + H2e</i> ✓ <i>(14) (NH2) 2011</i> <i>Cloruro de Vanilina</i>	SOLVENT <i>CCl4</i> CONC _____ CELL PATH _____ REFERENCE <i>CLM</i>	SCAN <i>634</i> SLIT <i>Compens W</i> OPERATOR _____ DATE <i>11-2-70</i> No. 5102-1000	SINGLE D. _____ T.D. SPEED _____ DRD. EXP. _____ T. CONST _____ REF. No. <i>2007</i>	REMARKS
---	--	--	--	---------