

58  
23

# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO



FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

**"SINTESIS DEL ACIDO (D)-AMINOFENILACETICO,  
Y OPTIMIZACION DE LA SINTESIS POR DISEÑO  
DE EXPERIMENTOS"**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
**Q U I M I C A**  
P R E S E N T A  
**NIDIA PAULINA VILLALVA SERVIN**



TESIS CON  
FALSA FE ORG

MEXICO, D. F.

1993



Universidad Nacional  
Autónoma de México



## **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.

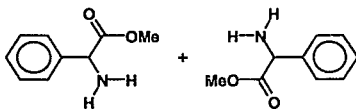
## INDICE

	PAGINA
INTRODUCCION	1
ANTECEDENTES	5
RESULTADOS. ANALISIS Y DISCUSION	39
DESARROLLO EXPERIMENTAL	72
CONCLUSIONES	80
BIBLIOGRAFIA	83

## INTRODUCCIÓN.

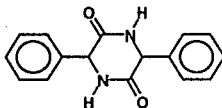
El objetivo de la presente tesis es efectuar la síntesis, así como la optimización de dicho proceso mediante diseño factorial de experimentos con el programa de cómputo X-Stat, de un aminoácido ópticamente activo, la D-(-)-Fenilglicina, la cual es una importante materia prima para la obtención de antibióticos como las penicilinas y las cefalosporinas<sup>1,2,3</sup>.

Además de lo anterior su síntesis es relevante, porque sus derivados tales como el dímero cíclico de la D-(-)-Fenilglicina (I), por ejemplo, se utiliza como estimulador en el crecimiento de plantas, como la col y la lechuga<sup>4</sup>.



METIL ESTER DE LA FENILGLICINA

200°C

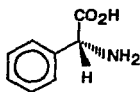


DIMERO CICLICO DE LA FENILGLICINA (I)

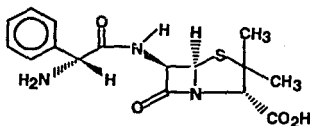
ESQUEMA No. "1"

Por otro lado el derivado cloruro de ácido del clorhidrato de la D-(-)-Fenilglicina, se utiliza como agente acilante<sup>5</sup>. Otros usos, aunque con un campo de aplicaciones menos comunes son los usos que se le dan a la D-(-)-Fenilglicina como agente quiral para la separación de enantiómeros<sup>1,6,7</sup> ó agentes nucleantes para poliolefinas<sup>8</sup>.

Sin embargo, en la actualidad su principal aplicación es como materia prima en la síntesis de la Ampicilina (II)<sup>2,9</sup>, antibiótico frecuentemente empleado en medicina.



D-(-)-FENILGLICINA

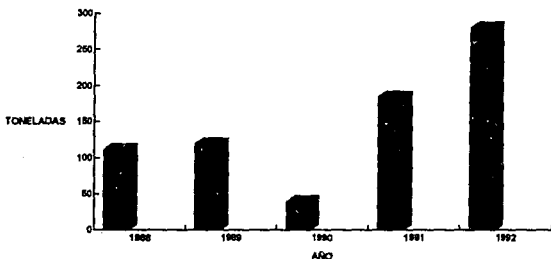


AMPICILINA (II)

ESQUEMA No. "2"

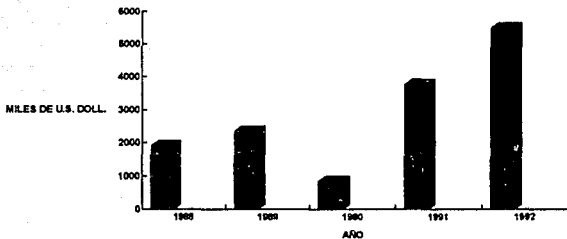
La síntesis de este aminoácido tiene un gran interés económico ya que hasta la fecha, este compuesto no se produce en México, por lo que éste se tiene que importar, implicando con ello un gasto muy grande para el país, como lo demuestran los datos de importación registrados para los años de 1988 a 1992, los cuales se muestran a continuación:

GRAFICA No. "1"  
IMPORTACIONES DE LA D(-)-FENILGLICINA  
(TONELADAS)



Los datos mostrados en la gráfica No. "1", demuestran que la demanda de la D(-)-Fenilglicina se ha incrementado en los últimos años, implicando ésto una inversión muy alta, lo cual se observa en la gráfica No. "2".

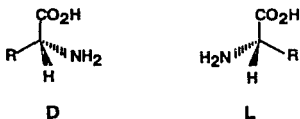
GRAFICA No. "2"  
IMPORTACIONES DE LA D-(-)-FENILGLICINA  
(MILES DE DOLARES AMERICANOS)



La importancia de la síntesis propuesta, así como la optimización del proceso global de síntesis para la D-(-)-Fenilglicina es obvia por lo anteriormente expuesto, así como el ser objetivo y razón de esta tesis; ambos están ampliamente justificados, por los beneficios que traería consigo al país, la producción a gran escala del aminoácido D-(-)-Fenilglicina, el cual se pretende sintetizar mediante el uso de materias primas nacionales.

## ANTECEDENTES

Los aminoácidos son las unidades estructurales básicas de las proteínas. Un aminoácido consiste en un grupo amino, un grupo carboxílico, un átomo de hidrógeno y un grupo distintivo "R" enlazados a un átomo de carbono al que se le llama carbono  $\alpha$ , el agrupamiento de los cuatro grupos diferentes alrededor del carbono, confiere actividad óptica a los aminoácidos, ya que el átomo de carbono en  $\alpha$ , es un centro de asimetría y las dos formas especulares en las que puede existir se llaman isómero L e isómero D, los cuales se diferencian por su estereoquímica, es decir por la disposición espacial de los átomos que los constituyen y por su reactividad frente a ciertos compuestos químicos, los cuales a su vez presentan actividad óptica<sup>10</sup>.



ESQUEMA No. "3"

Hasta la fecha se han aislado e identificado unos 100 aminoácidos de todas las fuentes naturales, de los cuales sólo unos 20 aminoácidos de entre los aislados de materiales vivos son componentes naturales de las proteínas, solamente los aminoácidos en forma de sus isómeros L son constituyentes de las proteínas, aunque en algunos antibióticos y en las membranas de las células de los microorganismos se encuentran aminoácidos con configuración D. El hombre puede sintetizar sólo la mitad del conjunto básico de los veinte



aminoácidos. Dichos aminoácidos son denominados no esenciales, mientras que los que deben ser suplidos mediante la dieta se denominan esenciales, no porque sean los únicos necesarios para el funcionamiento de la especie, sino porque son indispensables en la dieta de la especie humana ya que nuestras células no pueden sintetizarlos<sup>11</sup>.

Por otra parte las proteínas de acuerdo a la función que realizan pueden ser clasificadas en proteínas funcionales por ejemplo enzimas, proteínas de almacenamiento, de transporte en la sangre ya sea de oxígeno como la hemoglobina, lípidos como la  $\alpha$ -lipoproteína ó ácidos grasos como la seroalbúmina, contráctiles, proteínas protectoras en la sangre de los vertebrados, toxinas, hormonas tales como la Insulina que regula el metabolismo de la glucosa ó la hormona del crecimiento que estimula el crecimiento de los tejidos ó en proteínas estructurales que conforman las paredes celulares como glucoproteínas ó el tejido conjuntivo fibroso (tendones, huesos, cartílago) como la colágena ó la elastina que forma el tejido conjuntivo elástico (ligamentos) ó las translocasas que pasan moléculas o iones a través de la membrana celular.

Los aminoácidos son sólidos no volátiles, altamente cristalinos, de alto punto de fusión, y ópticamente activos. Son esencialmente insolubles en disolventes apróticos tales como el tolueno y acetato de etilo, ligeramente solubles en metanol, etanol y solubles en agua. Este comportamiento en cuanto a la solubilidad refleja la estabilización fuerte del switterion en la red cristalina en la cual los iones con carga opuesta, están cerca unos de otros y son capaces de formar enlaces de hidrógeno. La disolución sólo tiene lugar cuando el disolvente posee una constante dieléctrica alta y puede estabilizar los iones carboxilato y amonio mediante enlaces de hidrógeno.

Dos características estructurales son de gran importancia:

1) Los aminoácidos son moléculas quirales.

2) Existen como sales internas.

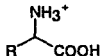
En soluciones acuosas se comportan como sustancias anfóteras, es decir como ácidos frente a bases y como bases frente a los ácidos. Así, según el pH de las disoluciones los aminoácidos pueden existir en agua como tres tipos de sales.

1) La sal interna o switterion que es la forma principal en el intervalo de pH comprendido entre 3 y 9.



ESQUEMA No. "4"

2) Una sal de amonio dominante por debajo del pH=2.



ESQUEMA No. "5"

3) Una sal de carboxilato dominante por encima del pH=10.



ESQUEMA No. "6"

Para cada aminoácido existe un pH llamado punto isoelectrico característico para cada uno de ellos en el que la ionización del grupo carboxilo cancela la del grupo amino, y en donde la acción del aminoácido como base y como ácido es igual<sup>12</sup>, es decir, cuando se forma el switterion.

## **SINTESIS DE AMINOACIDOS<sup>11,13</sup>.**

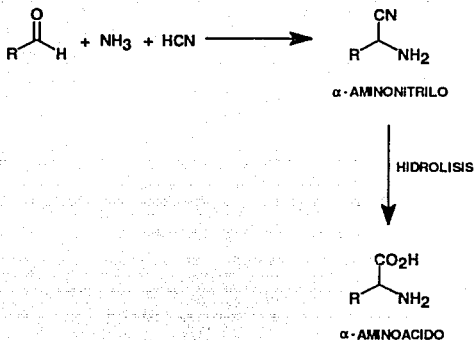
Los métodos generales disponibles para la síntesis de aminoácidos son tres:

- a) Separación a partir de proteínas hidrolizadas.
- b) Síntesis Enzimática.
- c) Síntesis Química.

Debido a que el aminoácido D-(-)-Fenilglicina es un aminoácido no esencial los métodos para la obtención del mismo se reducen a la Síntesis Enzimática y Síntesis Química. La Síntesis Química es la más adecuada para los fines que se pretenden alcanzar mediante la síntesis de este aminoácido, ya que no obstante, que la producción enzimática es una buena alternativa en la síntesis de aminoácidos, involucra un trabajo multidisciplinario que muchas industrias farmoquímicas prefieren no utilizar. A continuación se mencionan los principales métodos de síntesis química reportados para la obtención del aminoácido D-(-)-Fenilglicina.

### **1) Método de Strecker<sup>14</sup>.**

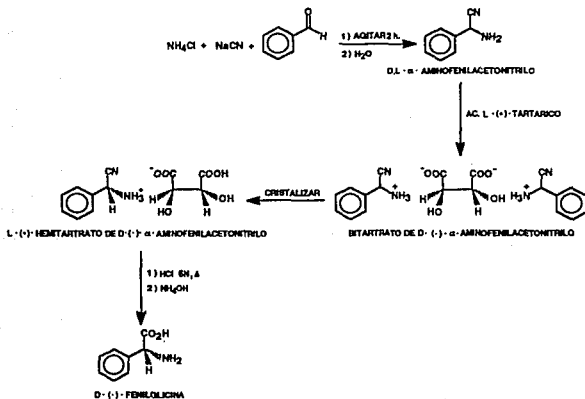
Este método fué utilizado por primera vez en 1850 por su autor, para la preparación de alanina. El primer paso en la reacción involucra la formación de un  $\alpha$ -aminonitrilo por la adición de cianuro de hidrógeno y amoníaco a un aldehído o cetona, y el segundo paso consiste en la hidrólisis del aminonitrilo al aminoácido correspondiente. El método de Strecker es extremadamente útil para propósitos industriales. Produce buenos rendimientos de aminoácido, bajo condiciones suaves de trabajo comparadas con las utilizadas por otros métodos (Esquema No. "7").



**ESQUEMA No. "7"**

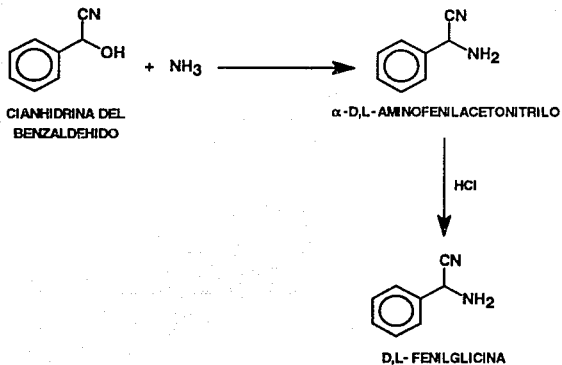
La síntesis de Strecker puede ser utilizada convenientemente a escala de nivel laboratorio, empleando una mezcla de cloruro de amonio y cianuro de potasio. Se realizó una revisión bibliográfica sobre los métodos de obtención de la D-(-)-Fenilglicina, que consta de 59 referencias en total. Se encontraron una serie de métodos que se basan en la síntesis de Strecker y aplican algunas modificaciones de la misma para llegar al producto mencionado con distintos rendimientos. Al analizar los diferentes métodos, incluyendo el método para la resolución, se encontró que las que presentan más posibilidades de ser realizadas con resultados satisfactorios son las siguientes:

1a) A una solución de cianuro de sodio en agua se adiciona cloruro de amonio, la mezcla se agita durante 15 minutos, adicionando entonces una solución de benzaldehído/metanol, formando de esta manera la mezcla racémica del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetnitrilo. Esta mezcla se trata con ácido L-(+)-Tartárico, obteniendo el bitartrato correspondiente el cual a su vez y por cristalización dará como producto el L-(+)-hemitartrato del  $\alpha$ -D(-)-aminofenilacetnitrilo. Finalmente por una hidrólisis ácida y posterior neutralización se obtiene el aminoácido ópticamente activo D(-)-Fenilglicina<sup>15</sup>. Esquema No. "8"



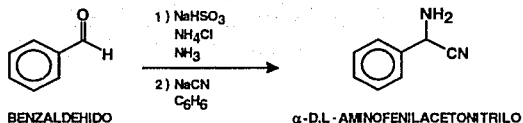
ESQUEMA No. "8"

**1b)** La cianhidrina del benzaldehído se trata con amoníaco gas para producir el  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetnitrilo, el cual sin ser aislado se hidroliza en condiciones ácidas para producir la mezcla racémica D,L-Fenilglicina<sup>16</sup> con un rendimiento del 95%. Esquema No. "9"



**ESQUEMA No. "9"**

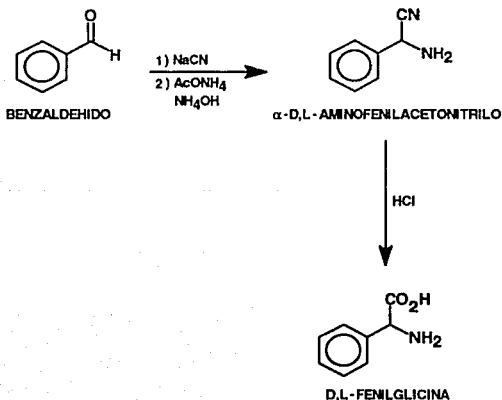
**1c)** El benzaldehído se trata con una solución de bisulfito de sodio, cloruro de amonio y amoníaco a 25°C, se agita durante dos horas y se eleva la temperatura a 40°C, se adicionan entonces benceno y cianuro de sodio a una temperatura de 18°C, continuando la agitación por tres horas y se eleva la temperatura a 25°C. De esta manera se obtiene el  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetnitrilo<sup>17</sup> con un rendimiento del 96%. Esquema No. "10"



**ESQUEMA No. "10"**

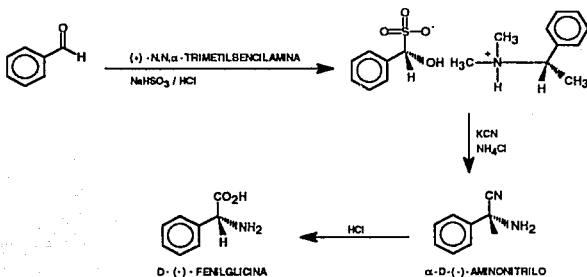
1d) El aminoácido D,L-Fenilglicina se sintetiza por reacción del benzaldehído con cianuro de sodio y acetato de amonio en hidróxido de amonio a una temperatura de 30°-70°C por tres horas. De esta manera se produce inicialmente el  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo, el cual mediante una hidrólisis ácida produce la mezcla racémica D,L-Fenilglicina<sup>1B</sup> con un rendimiento del 89.2%.

Esquema No. "11"



**ESQUEMA No. "11"**

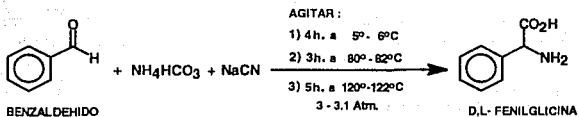
1e) El benzaldehído se trata directamente con (+)-N,N,α-trimetilbencilamina y bisulfito de sodio en ácido clorhídrico a temperatura ambiente. La solución resultante se trata con cianuro de potasio y cloruro de amonio para dar el nitrilo ópticamente activo. Este compuesto se hidroliza para dar el aminoácido D-(-)-Fenilglicina<sup>19</sup>. Esquema No. "12"



ESQUEMA No. "12"

1f) Una solución de benzaldehído, bicarbonato de amonio y cianuro de sodio, se agita a distintas temperaturas, variando también el tiempo de agitación, bajo una presión de 3-3.1 Atm., para dar la mezcla racémica del aminoácido Fenilglicina<sup>20</sup> con un rendimiento del 96% con el mismo porcentaje de pureza. Esquema No."13"



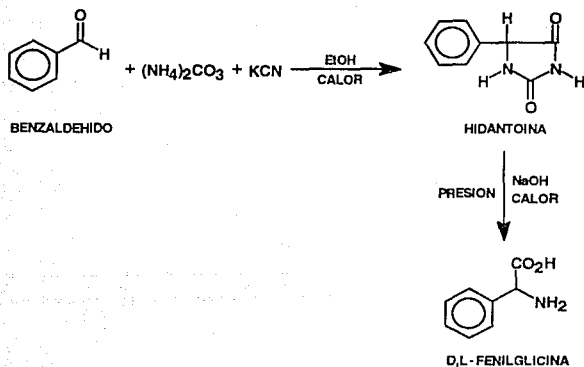


**ESQUEMA No. "13"**

**2) Método de Bucherer<sup>21</sup>.**

Fue desarrollado por Bucherer como una modificación de la síntesis de Strecker. En este método se utilizan como intermediarios derivados de la hidantoína, los cuales son estables en lugar de los aminonitrilos. Los derivados de las hidantoínas se obtienen por reacción de aldehídos con cianuro de hidrógeno y carbonato de amonio. Así, estos son fácilmente cristalizados y a menudo aislados de la mezcla de reacción. Una subsecuente hidrólisis alcalina, bajo condiciones de temperatura y presión altas, produce el aminoácido correspondiente.

De esta manera ha sido sintetizada la D,L-Fenilglicina<sup>1</sup>, utilizando las siguientes condiciones de reacción y obteniéndose con un rendimiento global 73%. Esquema No. "14"



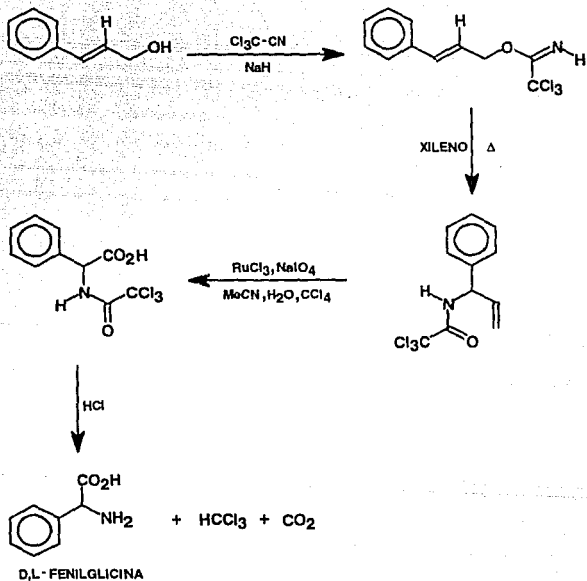
ESQUEMA No. "14"

### 3) Transposición de acetimidato.

Los alcoholes alifáticos se condensan con tricloroacetoniitrilo, en presencia de un catalizador<sup>22</sup>, en este caso NaH, para dar el correspondiente tricloroacetimidato. Este compuesto sufre una transposición de Claisen, dando un compuesto el cual contiene un grupo tricloroacetamido en la posición alifática.

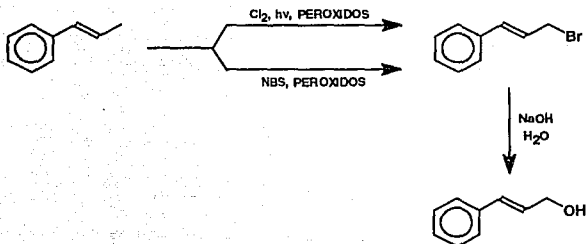
Posteriormente la doble ligadura es oxidada a temperatura ambiente, para producir el grupo carboxílico, sin afectar el grupo tricloroacetamido.

Finalmente una hidrólisis ácida de la amida produce el correspondiente  $\alpha$ -aminoácido con rendimientos aceptables. De esta manera se ha sintetizado la D,L-Fenilglicina<sup>22</sup>. Esquema No. "15"



ESQUEMA No. "15"

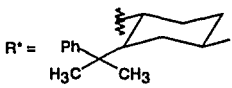
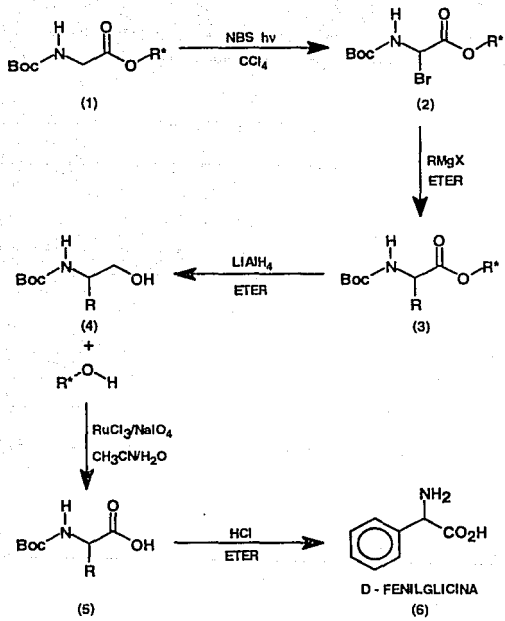
Los alcoholes alílicos pueden ser obtenidos a partir del correspondiente halogenuro de alilo, mediante hidrólisis básica, y el halogenuro de alilo a su vez, del correspondiente alqueno por cloración<sup>23</sup>. Otros métodos de obtención para los alcoholes alílicos son los siguientes:



ESQUEMA No. "16"

4) Adición de reactivos de Grignard a electrófilos del tipo  $\alpha$ -Bromo-N-Boc-Glicina-(-)-fenilmetil éster<sup>24</sup>.

La esterificación de N-Benzoilcarbonil (Boc)-glicina con (-)-8-Fenilmentol en presencia de DCC (Diciclohexilcarbodimida) y cantidades catalíticas de DMAP (Dimetilaminopiridina) en diclorometano, produce el N-Boc-iminoacetato de (-)-8-Fenilmentol<sup>25,26</sup> (1). Este compuesto solución de  $CCl_4$  y mediante irradiación y en presencia de NBS, produce una mezcla de bromuros (2). Esta mezcla se adiciona al reactivo de Grignard, en exceso, en éter a 0°C, produciéndose de ésta manera los amino ésteres correspondientes (3), los cuales son reducidos con  $LiAlH_4$  (4). Una oxidación posterior utilizando  $RuCl_3/NaIO_4$ , produce el N-Boc-aminoácido (5), que finalmente es tratado con éter y ácido clorhídrico para producir el aminoácido libre (6). La síntesis ha sido reportada para distintos aminoácidos<sup>24</sup> entre los que se encuentra la D-Fenilglicina. Esquema No. "17"



ESQUEMA No. "17"

## RESOLUCION OPTICA DE DL-AMINOACIDOS.

Debido a que los aminoácidos producidos industrialmente son utilizados principalmente en los campos de nutrición y farmacia, se necesitan obtener por un lado en la forma natural L y en otros casos la forma D, dependiendo del compuesto que se desee y las aplicaciones que se le pretenda dar.

Sin embargo, en la mayoría de los métodos sintéticos para producir aminoácidos, se obtiene una mezcla racémica de los mismos. Por lo tanto la resolución óptica de tales aminoácidos racémicos es una parte esencial del procedimiento sintético para obtenerlos con actividad óptica.

Un método sintético para ser útil en la producción de aminoácidos ópticamente activos, sólo tendrá validez cuando haga uso de los siguientes pasos: Síntesis Química y Racemización. Si se realizan adecuadamente y de una manera integrada tendrá validez la ruta sintética. Por ejemplo un proceso puede tener buen proceso de síntesis, pero puede tener un procedimiento complicado para la resolución óptica del producto, por lo que no se podrá utilizar de una manera práctica.

Por lo tanto, es más deseable que un intermediario en el proceso de síntesis química pueda ser resuelto fácilmente en sus antipodas ópticos, y el isómero no deseado sea fácilmente racemizado a la forma DL, para reutilizarlo en el paso de resolución.

Los métodos de resolución óptica para aminoácidos pueden ser clasificados en cuatro grandes grupos:

- 1) Métodos Fisicoquímicos<sup>27</sup>,
- 2) Métodos Químicos<sup>28</sup>,
- 3) Métodos Enzimáticos<sup>29</sup>,
- 4) Métodos Biológicos<sup>30</sup>.

La mayoría de los principios básicos para éstos métodos fueron descubiertos por Louis Pasteur en el siglo XIX. Por otra parte, los métodos biológicos en la actualidad raramente son aplicados con fines prácticos, debido a que sólo se obtiene el isómero D y no el L, por lo que se han desarrollado de una manera más amplia los métodos Fisiocuímicos, Químicos y Enzimáticos.

#### 1) Métodos Fisiocuímicos.

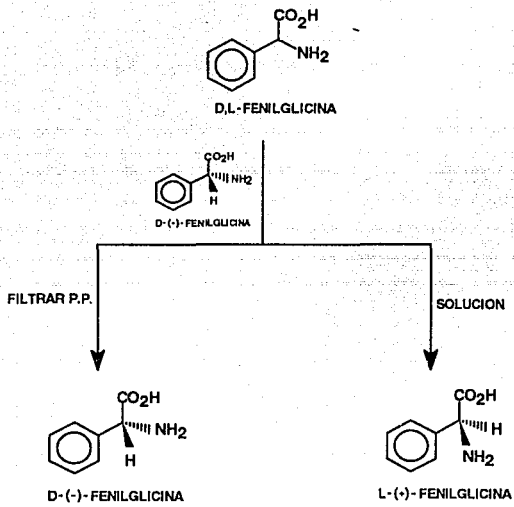
Aunque se han desarrollado muchos métodos Fisiocuímicos, tales como procedimientos de cristalización, procedimientos cromatográficos y otros, el procedimiento de cristalización es el de uso más común en la industria. Los procedimientos cromatográficos han sido probados para su posible aplicación industrial, sin embargo aún permanecen como métodos de aplicación a nivel de laboratorio por no satisfacer las demandas industriales<sup>31</sup>.

##### a) Procedimientos de Cristalización.

Entre los procedimientos para resolución óptica de aplicación industrial, se encuentran el procedimiento de cristalización preferencial o cristalización selectiva, el cual permite obtener el isómero ópticamente activo a partir de una solución supersaturada de la mezcla racémica del aminoácido, mediante la siembra del mismo isómero ó de una solución que contenga el isómero ópticamente activo en exceso. Un ejemplo es el siguiente:

Una mezcla racémica de Fenilglicina en solución de sosa a una temperatura menor de 20°C, se siembra con cristales puros de uno de los isómeros. Una vez que han crecido los cristales del isómero elegido, se separan y la solución se vuelve a sembrar con cristales puros del otro isómero. De esta manera se obtiene la D-(-)-Fenilglicina<sup>32</sup> con rendimientos del 96 a 98%.  
Esquema No. "18"





**ESQUEMA No. "18"**

Otro método es el procedimiento de cristalización renovable, el cual posee características de resolución química y de cristalización preferencial. La resolución se lleva a cabo sembrando una solución del D,L-aminoácido, con otro aminoácido ópticamente activo, como un tercer componente. Así, el isómero D ó L cristaliza, de acuerdo a la clase de aminoácido ópticamente activo que se

haya adicionado, ya que cristalizará el isómero que tenga la configuración opuesta a éste último.

b) Procedimientos cromatográficos.

Se ha utilizado como un método fisicoquímico de resolución acompañado de la cristalización. Se han hecho intentos por separar isómeros ópticos, en base a sus diferencias en absorción física, enlace químico o coeficiente de partición en un adsorbente. Los adsorbentes utilizados para este propósito requieren quiralidad y se prefieren sustancias naturales que tengan quiralidad tales como lana, almidón, celulosa, sacáridos, etc<sup>33</sup>.

Recientemente la resolución óptica se ha realizado utilizando polímeros<sup>34,35</sup> que posean quiralidad, tales como resinas intercambiadoras de iones<sup>36,37</sup>, sintetizadas por combinación con aminoácidos ópticamente activos<sup>1,6,7,38</sup>. Sin embargo los métodos que se han realizado no se han investigado a fondo y aún se encuentran en proceso de desarrollo.

Probablemente en el futuro, con el desarrollo de las investigaciones sobre adsorbentes asimétricos, puede ser posible aplicar este tipo de resolución a una escala de nivel industrial.

## 2) Métodos Químicos.

Los D,L-aminoácidos o sus derivados (D,L-A ó D,L-B, A=ácido, B=básico), son tratados con ácidos ó bases ópticamente activos y una de las sales formadas se cristaliza fraccionadamente, como un resultado de la diferencia de solubilidades entre las sales diastereoisoméricas. Usualmente la sal menos soluble se cristaliza y purifica, para separar posteriormente el aminoácido de dicha sal por las vías usuales.



Un problema de éste método, es que no hay una regla general respecto al procedimiento de resolución. Algunas veces también es difícil obtener los agentes de resolución a bajos costos y en grandes cantidades, además, la pureza óptica es a menudo baja, especialmente cuando se cristalizan grandes cantidades porque en muchos casos no existe una marcada diferencia en las solubilidades o en la velocidad de crecimiento de los cristales entre las sales diastereoisoméricas. Las dificultades en el proceso de filtración, después de la cristalización, depende de la forma de los cristales, pero el proceso de resolución es el que evidentemente influye.

Por otro lado, este método tiene el mérito de presentar un mayor campo de aplicación que los procedimientos de cristalización antes mencionados, los cuales, requieren efectuar la cristalización en una mezcla racémica. Cuando la pureza óptica de los productos obtenidos en una fraccionación simple es insatisfactoria, el isómero ópticamente puro puede ser obtenido por la repetición del procedimiento de cristalización.

Desde el punto de vista de los agentes de resolución, se puede decir que los derivados de el alcanfor, los alcaloides y el ácido tartárico, son los más frecuentemente empleados. Sin embargo, para la producción industrial se requiere de una gran cantidad de agentes de resolución de bajo costo; el uso de alcaloides no es recomendable, aún cuando los alcaloides sean recuperables, debido a la toxicidad propia del alcaloide.

En la formación de sales, es usual la adición de cantidades equimoleculares de los agentes de resolución, a la forma D,L del aminoácido, y las sales disatereoisoméricas, L-A-(+)-b y D-A-(+)-b, se forman de acuerdo al esquema mostrado anteriormente, sin embargo es necesario investigar el efecto de la cantidad del agente de resolución, modificando la relación con respecto a la forma D,L del aminoácido, porque el cambio en la relación molar algunas veces produce resultados más o menos satisfactorios. Por ejemplo, utilizando 0.5 equivalentes de agente de resolución, sólo L-A-(+)-b ó D-A-(+)-b son cristalizados preferencialmente, mientras que el isómero residual forzosamente permanece en solución.

Con respecto a este punto, se encontró reportado<sup>39</sup> un estudio sobre el efecto de distintos ácidos orgánicos (ácido acético, ácido propanoico y ácido butanoico), así como de la relación molar del ácido (1S)-10-Alcanforsulfónico con respecto al aminoácido, en la transformación asimétrica de (R,S)-2-Fenilglicina vía la formación de la sal con ácido (1S)-10-Alcanforsulfónico, obteniendo como resultados que la relación molar de (R,S)-2-Fenilglicina:ácido (1S)-10-Alcanforsulfónico debe ser de 20mmol:19mmol, utilizando ácido propanoico, para obtener con respecto a la sal (R)-(S) un rendimiento químico de 81.8% y pureza óptica del 100% y por lo que se refiere al aminoácido libre R-Fenilglicina se obtuvo un rendimiento químico del 80.6% con una pureza óptica del 100%.

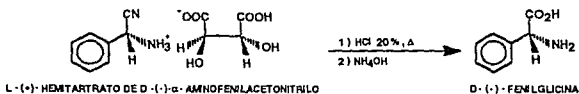
En general el método químico está compuesto por la cristalización y la separación de la sal menos soluble, basado en la diferencia de solubilidades entre las sales diastereoisoméricas.

Desde el punto de vista de uso industrial, el método químico para los propósitos de producción en gran escala, es realmente difícil de operar automáticamente o secuencialmente, debido al requerimiento de distintos

procedimientos para la separación de la forma D y la forma L, así como al requerimiento de procedimientos divergentes para la recristalización fraccional.

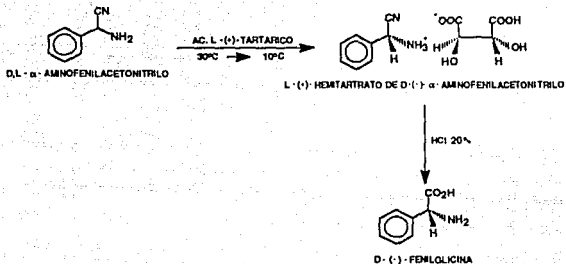
Sin embargo en muchos casos, de todos los procedimientos descritos es uno de los métodos con más ventajas para la producción de aminoácidos ópticamente activos. Algunos ejemplos de éste método de resolución son los siguientes:

1) En este trabajo se presenta únicamente los resultados obtenidos para llevar a cabo la resolución, no especificando como se obtiene la sal del hemitartrato del D-(-)- $\alpha$ -aminofenilacetnitrilo, la cual al ser hidrolizada en condiciones ácidas, a una temperatura de 90°C durante 2 horas, produce el aminoácido libre D-(-)-Fenilglicina<sup>40</sup>. Esquema No. "19"



ESQUEMA No. "19"

2) Una mezcla racémica de  $\alpha$ -D,L-Aminofenilacetnitrilo se trata con cantidades equimoleculares de ácido L-(+)-Tartárico, empleando como disolvente metanol, y agitando la suspensión a una temperatura de 30°C y enfriando posteriormente hasta 10°C para producir el hemitartrato de  $\alpha$ -aminofenilacetnitrilo. Este compuesto se trata con una solución de ácido clorhídrico al 20% para producir el aminoácido D-(-)-Fenilglicina<sup>41</sup> con un rendimiento del 84.7%. Esquema No. "20"



ESQUEMA No. "20"

### 3) METODOS ENZIMATICOS

La resolución óptica enzimática es un procedimiento para la separación de D,L-aminoácidos, en isómeros ópticos por acción enzimática, tales como síntesis estereoespecífica o hidrólisis. Por este método se pueden obtener isómeros de alta especificidad óptica, y el método puede ser aplicado a la resolución óptica de una amplia variedad de D,L-aminoácidos. Además se puede también manejar grandes cantidades de D,L-aminoácido en una sola operación<sup>42,43</sup>.

Se han publicado diferentes métodos para la resolución óptica enzimática de D,L-aminoácidos, y estos métodos se utilizan a una escala de laboratorio. Sin embargo, para una aplicación industrial, es necesario que se cumpla con los siguientes requisitos.

Por lo que respecta al sustrato utilizado:

- a) Debe ser producido en gran escala y a bajo costo, y debe ser un intermediario en la síntesis del aminoácido o un derivado de este como intermediario que se forme con facilidad.
- b) La separación de ambos isómeros ópticos, después de la terminación de la reacción enzimática, debe ser fácil.
- c) Deben ser fácilmente racemizados los D-aminoácidos o sus derivados, y los sustratos racemizados obtenidos, deben volverse a utilizar como sustratos.

Por otro lado, en cuanto a la enzima utilizada:

- a) Debe ser obtenida a gran escala, a bajo costo.
- b) La preparación de la enzima cruda, debe ser posible sin la aplicación de cualquier procedimiento de purificación complicado .
- c) Se deben tomar las precauciones necesarias para asegurar que no ocurran reacciones laterales, debido a la presencia de contaminantes en la enzima.

Si estos requisitos no se cumplen completamente, el método enzimático no puede ser llevado a una escala de nivel industrial.

En cuanto a la racemización se puede decir que es un método muy importante para evitar pérdida de materia durante el proceso de síntesis, ya que mediante esta técnica una vez que se ha obtenido el isómero deseado, el isómero que no es de interés; puede ser reutilizado mediante una racemización al D,L-aminoácido ó al respectivo enantiomero con una posterior resolución óptica.

Los principales métodos de racemización del isómero no deseado son:

- a) Racemización por ácidos y alcalis.
- b) Racemización por catálisis.
- c) Racemización por calentamiento en agua.
- d) Racemización enzimática.

## CONSIDERACIONES OPTICAS

Con excepción de la glicina y el ácido aminomalónico, todos los aminoácidos del tipo  $RCH(NH_2)COOH$ , pueden ser obtenidos al menos de dos formas isoméricas diferentes. Estas formas, las cuales muestran la misma forma molecular y tienen idénticos grupos de átomos en las moléculas, son indistinguibles unas de otras sobre sus propiedades fundamentales, físicas y químicas, con la excepción de sus efectos sobre el plano de la luz polarizada.

Un isómero que posee la propiedad de rotar el plano de la luz polarizada hacia la izquierda se le denomina levógiro y el otro isómero que la rota hacia la derecha se le llama dextrógiro. Aunque el poder óptico rotatorio exhibido por estos isómeros es diferente en dirección, es sin embargo de la misma magnitud.

Así, para compuestos puros, la actividad óptica específica se define como:

$$[\alpha]_{\lambda}^T$$

A temperatura T y longitud de onda  $\lambda$

$$\lambda = \alpha / (1 \cdot d)$$

Donde  $\alpha$  es el grado de rotación observado en una celda de 1dm de largo para un compuesto puro. cuya densidad es d.

Para un compuesto en solución, la actividad óptica específica se define como:

$$[\alpha]_{\lambda}^T$$

A temperatura T y longitud de onda  $\lambda$

$$\lambda = \alpha / (1 \cdot g \cdot d) \quad \text{ó} \quad \alpha / (1 \cdot c)$$

Donde  $\alpha$  son los grados de rotación observados en un tubo de 1 dm. de longitud, para una solución conteniendo g gramos de soluto por 100 gramos de una solución relativamente concentrada de densidad d ó donde c son los



gramos de soluto por 100 ml. de solución relativamente diluida en donde la densidad es muy cercana a la unidad.

La medida de la rotación óptica en aminoácidos se emplea para cuatro propósitos generales:

- a) Como un indicador de la pureza óptica de muestras de aminoácidos, asumiendo la existencia de una medida estándar.
- b) Para caracterizar únicamente un nuevo aminoácido, en términos de una constante física en particular.
- c) Para ayudar a identificar de otra manera aminoácidos desconocidos por la magnitud de la rotación óptica y para identificar si se encuentra en forma D ó L, en virtud del signo de la rotación.
- d) Con la asistencia de ciertas relaciones ópticas rotatorias empíricas, para determinar en que configuración D ó L se encuentra un aminoácido (análisis configuracional).

## DISEÑO DE EXPERIMENTOS<sup>44</sup>

En general, el diseño de experimentos podría ser definido como el estudio de la dependencia de un proceso químico hacia las variables independientes que se rijan en el mismo, tales como temperatura, presión, catalizador, concentración de reactivos, etc., con el fin de observar el comportamiento de la reacción en distintas condiciones y determinar el valor de cada una en las que el rendimiento es óptimo.

Anteriormente el diseño de experimentos tradicional, se realizaba mediante la modificación de cada una de las variables y manteniendo las demás variables constantes, y analizando el proceso químico de acuerdo a lo indicado por los cambios observados.

Actualmente y con los adelantos en computación se pueden analizar los procesos químicos estadísticamente y aplicando distintos diseños tales como Diseño factorial, cuyo número de experimentos para cada serie o corrida se incrementa como  $2^N$  para N variables, ó como los modelos lineal y cuadrático.

Existen otros métodos para la optimización de procesos químicos tales como el método Taguchi<sup>45</sup> y el método Simplex, el método secuencial Simplex, presentado por Spendley y colaboradores<sup>46</sup> y más tarde aplicado por Long<sup>47</sup> a la química analítica, en dicho método las condiciones óptimas se obtienen mediante cálculos y decisiones fijadas al inicio del diseño, para lo cual es necesaria una prueba para observar la respuesta del sistema frente a los cambios de las variables. El método debe su nombre a una figura n-dimensional con n+1 vértices, lo cual quedaría representado mediante un triángulo en dos dimensiones y por un tetraedro en tres dimensiones. La desventaja que presenta este método es que debe de partir con n+1 experimentos en donde en es el número de variables, para descartan el peor punto que será reemplazado por otro experimento de acuerdo a las condiciones establecidas, de esta

manera no se puede acelerar el proceso en caso de que las condiciones óptimas se encuentren lejos de ser alcanzadas.

Sin embargo en cualesquiera de los métodos mencionados se analizan los efectos de las distintas variables así como la interacción entre ellas, sobre el proceso químico.

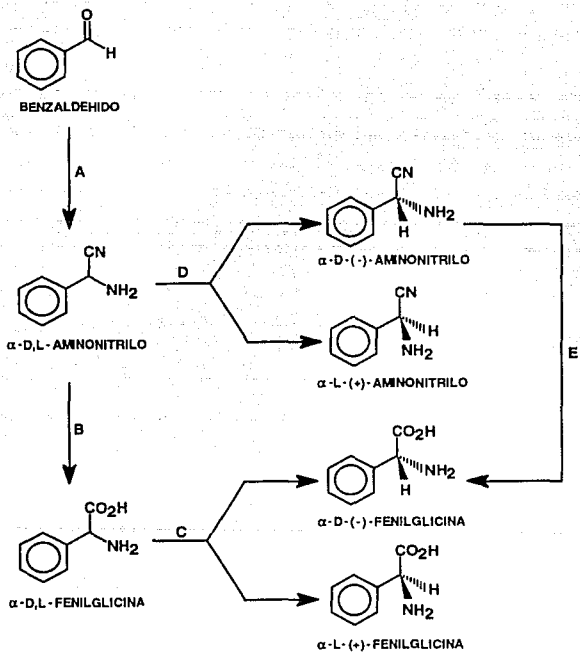
En la presente tesis se eligió un diseño factorial de experimentos el cual utiliza un programa de cómputo llamado X-Stat<sup>48</sup> el cual es una magnífica herramienta de la cual pueden y deben hacer uso los químicos, ya que provee un método a través del cual se puede optimizar un proceso, empleando un número menor de experimentos que el empleado por otros procedimientos.

Las ventajas que presenta el diseño de experimentos X-Stat el cual, en nuestro caso particular, manejó tres variables, las cuales al ser representadas en el espacio dan como resultado un cubo, que ejemplifica por medio de zonas o elipses, los distintos comportamientos de la reacción a diferentes condiciones, pudiéndose de esta manera señalar como punto sobresaliente que el rendimiento máximo se puede encontrar no sólo en unas condiciones específicas sino en varias de las combinaciones de las variables empleadas, lo cual proporciona la posibilidad de evaluar cual combinación de todas las posibles es la más adecuada de acuerdo al objetivo que se persiga, como por ejemplo costos, ahorro de energía, cuidado ambiental ect. Las pequeñas desventajas que presenta este diseño de experimentos computarizado X-Stat es que la reacción debe conocerse y manejarse perfectamente antes de introducirla al diseño de experimentos ya que pequeños errores de manipulación provocan grandes desviaciones en las respuestas obtenidas. Pero en este caso la desventaja se presentaría en todos los métodos que se empleen ya que las respuestas se basan en los datos proporcionados por el operador.

## RESULTADOS. ANALISIS Y DISCUSION

De todos los métodos reportados en la literatura se eligieron las rutas sintéticas más probables para llevar a cabo la síntesis del aminoácido D-(-)-Fenilglicina. Y se llegó a la conclusión de que la síntesis más adecuada es aquella en la que se emplea el método de Strecker, ó algunas de sus modificaciones. Dicho método ofrece una opción de síntesis a través de una ruta que en comparación con las otras expuestas resulta corta y emplea materias primas de fácil adquisición, a diferencia de los métodos de la Transposición de acetimidato ó la adición a reactivos de Grignard, los cuales presentan rutas sintéticas muy largas con reactivos que no son comunes y sobre todo los rendimientos son similares a los reportados para las síntesis de Strecker y Bücherer. Esta última opción también fué descartada ya que las condiciones de reacción empleadas son elevadas.

Por lo anterior el esquema sintético propuesto en este trabajo, para obtener la D-(-)-Fenilglicina, y el cual se basa en una modificación a la síntesis de Strecker, es el siguiente:



ESQUEMA No. "21"

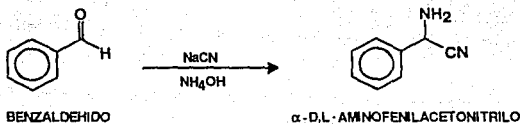
En este esquema de síntesis, la obtención del aminoácido D-(-)-Fenilglicina se puede llevar a cabo mediante la obtención inicial del  $\alpha$ -aminonitrilo racémico a partir de benzaldehído (Paso A), el cual puede ser resuelto a nivel del  $\alpha$ -aminonitrilo (Paso D) y posteriormente mediante una hidrólisis del  $\alpha$ -aminonitrilo, obtener el  $\alpha$ -D-(-)-aminoácido (Paso E). La otra opción consiste en llevar a cabo una hidrólisis del  $\alpha$ -aminonitrilo para obtener el  $\alpha$ -D,L-aminoácido (Paso B) y realizar la resolución (Paso C) para obtener el D-(-)-Aminoácido que interesa con actividad óptica.

En el esquema de síntesis se plantea como primer paso (Paso A) la obtención del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetnitrilo. Para lograr esto, los métodos reportados emplean invariablemente el benzaldehído y en algunos casos adicionan los nucleófilos  $\text{NH}_3$  y  $\text{CN}^-$  en un sólo paso (Síntesis de Strecker original), en otros primero  $\text{NH}_3$  ó  $\text{CN}^-$  y después  $\text{CN}^-$  ó  $\text{NH}_3$  respectivamente.

En otros casos como lo reportan Toth Gabor<sup>19</sup> y Shiota<sup>22</sup> emplean como materia prima adicional el  $\text{NaHSO}_3$ , mediante el cual se obtiene el intermediario de adición bisulfítica, y posteriormente se adicionan el  $\text{NH}_3$  y el  $\text{CN}^-$  (Modificación a la síntesis de Strecker).

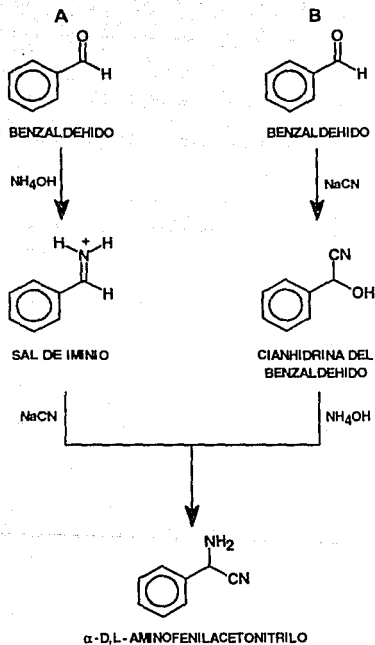
Tomando en cuenta que el orden de adición de los reactivos en esta síntesis en especial es de radical importancia, a continuación realizamos un análisis de los métodos empleados con el fin de seleccionar aquel que convenga para nuestros propósitos:

En los casos en que se agregan los nucleófilos en una sola operación, el compuesto que obviamente se formará es el  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetnitrilo. Sin embargo se podría pensar que el rendimiento no será muy bueno porque no habrá selectividad en la reacción. Esquema No. "22"



**ESQUEMA No."22"**

Es decir si consideramos cual de los dos nucleófilos es mejor como tal podría pensarse en la posibilidad de introducir éste primero, formando una especie más reactiva y agregar entonces el segundo cuya entrada se vería favorecida. Basándonos entonces en la diferencia de electronegatividad y tamaño para considerar los mejores nucleófilos, se sabe que el mejor nucleófilo es aquel que posea una electronegatividad menor y un mayor tamaño. En nuestro caso particular se observa que el de mayor tamaño es el nucleófilo  $\text{NH}_3$  y a la vez el menos electronegativo, considerando para este último punto que el  $\text{CN}^-$  tiene un dipolo mayor que genera una carga negativa sobre el carbono, haciéndolo más electronegativo. Así, las posibilidades son las siguientes:



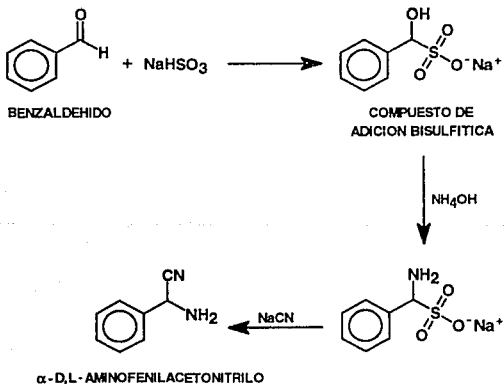
ESQUEMA No. "23"

Analizando los intermediarios formados como primer punto se pensaría en que la cianhidrina del benzaldehído al presentar un dipolo el grupo CN<sup>-</sup>, induce en el carbono quiral un mayor dipolo electropositivo. Sin embargo la



cianhidrina como tal es una molécula más estable, posible de aislar lo que la hace menos reactiva. En cambio la sal de iminio es una especie más reactiva, debido a la carga positiva que soporta el nitrógeno la cual se ve neutralizada al llevarse a cabo el ataque nucleofílico, recuperando el par electrónico el nitrógeno. De esta manera se supone que la opción A mencionada en el esquema "23" es la mejor opción para llevar cabo la reacción.

Hay otra posibilidad para mejorar el rendimiento de la reacción, la cual consiste en la formación de un intermediario de adición bisulfítica, el cual favorecería el ataque nucleofílico debido a la diferencia electronegatividad entre los oxígenos y el azufre. Esquema No. "24"



ESQUEMA No. "24"

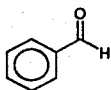
Todas estas aseveraciones se basan en otro trabajo<sup>49</sup> en donde se analizaron las distintas posibilidades, obteniendo como resultados que la síntesis de  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo se realiza de manera más conveniente generando primero el intermediario de adición bisulfítica, agregando posteriormente el nucleófilo  $\text{NH}_3$  y por último el nucleófilo  $\text{CN}^-$ , obteniendo así los mejores rendimientos.

Analizando ahora el paso siguiente en el esquema "21" que consiste en la resolución a nivel del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo (Pasos D,E) y posterior hidrólisis ó hidrólisis a nivel del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo y posterior resolución (Pasos B,C), se eligió como ruta sintética la segunda opción (Pasos B,C) ya que de la primera opción (Pasos D,E) se encontró reportado un estudio<sup>49</sup> en el que se emplea como agente de resolución el ácido L-(+)-Tartárico y HCl en la hidrólisis, mediante el cual se obtienen rendimientos químicos aceptables, pero pureza óptica pobre debido a la poca diferencia de solubilidades que presentan las sales de los distintos isómeros, lo que dificulta su separación.

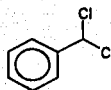
Con respecto a la hidrólisis, los métodos reportados para llevar a cabo la hidrólisis del nitrilo, consisten en emplear tanto catálisis ácida, como catálisis básica. Al parecer, los mejores resultados se obtienen al utilizar catálisis básica, lo cual se comprobó en este trabajo.

Para llevar a cabo la resolución del aminoácido D,L-Fenilglicina se encontró reportado un método con rendimientos aceptables en el que se emplea ácido (1S)-10-Alcanforsulfónico como agente de resolución<sup>50-53</sup>.

Por lo tanto la ruta sintética global elegida, es la mostrada en el siguiente esquema incluyendo en tal una modificación que consiste en el empleo de cloruro de benzal para generar *in situ* el benzaldehído, dicha modificación se encuentra reportada<sup>54</sup> en la literatura con rendimientos aceptables.



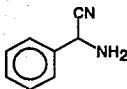
BENZALDEHIDO (1)



CLORURO DE BENZAL (2)

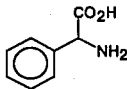
- 1) NaHSO<sub>3</sub>  
MeOH/H<sub>2</sub>O
- 2) NH<sub>4</sub>OH
- 3) NaCN

- 1) NaOH
- 2) NaHSO<sub>3</sub>  
MeOH/H<sub>2</sub>O
- 3) NH<sub>4</sub>OH
- 4) NaCN

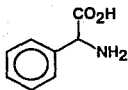


$\alpha$ -D,L-AMINOFENILACETONITRILLO (3)

NaOH



D,L-FENILGLICINA (4)



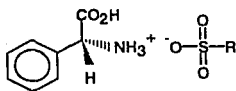
D,L-FENILGLICINA (4)

AC. (1S)-10-ALCANFORSULFONICO

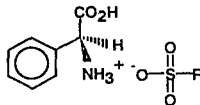
H<sub>2</sub>O, Δ

FILTRAR P.P.

SOLUCION

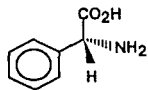


(1S)-ALCANFORSULFONATO  
DE LA D-(-)-FENILGLICINA (5)

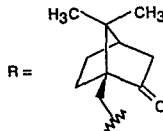


(1S)-ALCANFORSULFONATO  
DE LA L-(+)-FENILGLICINA (6)

NH<sub>4</sub>OH 10 %



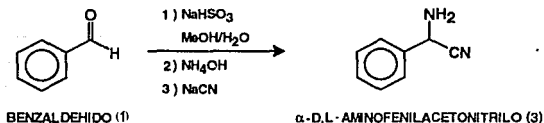
D-(-)-FENILGLICINA (7)



ESQUEMA No. "25"

A continuación se analizan los resultados obtenidos al llevar a cabo la síntesis de cada uno de los distintos intermediarios, involucrados en dicha ruta sintética, así como los inconvenientes surgidos en cada paso de dicha síntesis.

### 1) SÍNTESIS DE $\alpha$ -D,L-AMINOFENILACETONITRILLO A PARTIR DE BENZALDEHIDO.



ESQUEMA No. "26"

Al efectuar la síntesis utilizando como materia prima el benzaldehído (1), se realizaron varias pruebas, antes de desarrollar el diseño de experimentos, con el fin de determinar las variables independientes que debían manejar, así como los límites que se establecerían a las mismas, así como también el saber como tener un control de la manipulación de ésta reacción. Para eliminar variables adicionales en el experimento, se purificó el benzaldehído mediante destilación a presión reducida, manteniéndolo ampolletado en recipientes color ámbar hasta el momento de su uso, bajo atmósfera de nitrógeno. Las diferentes muestras de cianuro de sodio y bisulfito de sodio, así como el hidróxido de amonio fueron tomadas del mismo lote, para que la respuesta no se viera influida por las posibles diferencias de una marca a otra ó de un lote a otro.

El tiempo de agitación también se mantuvo constante en las diferentes etapas del diseño de experimentos, y la agitación se realizó con agitadores mecánicos.

Todos los experimentos se realizaron en un baño de agua a temperatura constante, controlada automáticamente.

De esta manera se planteó un primer diseño de experimentos, tomando como variables independientes los gramos de bisulfito de sodio con límites de 2g a 7g, disolviéndolo previamente en 10 ml de H<sub>2</sub>O y 3 ml de metanol, el volumen de hidróxido de amonio con límites de 0.75 ml a 14.25 ml, y finalmente la temperatura, con límites de 15°C a 45°C.

Cabe hacer la aclaración que, debido a la inestabilidad del  $\alpha$ -aminofenilacetoniitrilo obtenido, fué necesario formar el clorhidrato del mismo, ya que la purificación del compuesto no fué posible por las razones antes expuestas; además las impurezas presentes podrían afectar el rendimiento determinado por peso únicamente. Sin embargo, con el clorhidrato se logró resolver este problema, porque las impurezas fueron eliminadas en el tratamiento realizado. Por esta razón, el rendimiento reportado es con respecto al clorhidrato del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo.

La serie de experimentos, así como los resultados obtenidos fueron los siguientes:

**TABLA No. "1"**

**PRIMER DISEÑO DE EXPERIMENTOS EN LA SINTESIS DE  $\alpha$ -D,L-AMINOFENILACETONITRILO A PARTIR DE BENZALDEHIDO**

EXP.	AMONIACO (ml.)	BISULFITO DE SODIO (g)	TEMPERATURA (°C)	REND. (%)
1	7.50	4.0	15.0	29.83
2	3.00	6.0	40.0	18.93
3	14.25	4.0	30.0	54.42
4	12.00	6.0	20.0	43.85
5	0.75	4.0	30.0	0.22
6	3.00	2.0	20.0	23.48
7	7.50	4.0	30.0	55.34
8	7.50	4.0	30.0	55.22
9	7.50	7.0	30.0	44.10
10	7.50	4.0	45.0	40.18
11	7.50	4.0	30.0	54.16
12	12.00	2.0	40.0	32.64
13	3.00	2.0	40.0	39.10
14	12.00	6.0	40.0	57.63
15	3.00	6.0	20.0	13.11
16	12.00	2.0	20.0	35.46
17	7.50	4.0	30.0	47.07

Con el fin de observar si los resultados antes tabulados se podían ajustar a un comportamiento estadístico, con posibilidades de obtener una superficie de respuesta, fueron alimentados al programa cómputo de diseño de experimentos X-Stat de la compañía John Willey, mediante el cual se obtuvieron los siguientes datos:

#### RENDIMIENTO

Error típico de la estima [ $\sum(\text{residual})^2 / \text{Grados de libertad}$ ]<sup>1/2</sup> = 7.314

Coefficiente de correlación [Variación explicada/Variación total] x 100 = 91.48%

Modelo = cuadrático

**TABLA No. "2"**  
**RESIDUALES PARA EL RENDIMIENTO**  
**PRIMER DISEÑO DE EXPERIMENTOS**

EXPERIMENTO	RENDIMIENTO OBSERVADO (%)	RENDIMIENTO PREDICHO (%)	RESIDUALES (%)
1	29.83	30.58	-0.75
2	18.93	17.64	1.29
3	54.42	47.40	7.02
4	43.85	49.25	-5.40
5	0.22	9.90	-9.68
6	23.48	23.62	-0.14
7	55.34	52.45	2.89
8	55.22	52.45	2.77
9	44.10	46.76	-2.66



**TABLA No. "2"**

**RESIDUALES PARA EL RENDIMIENTO  
PRIMER DISEÑO DE EXPERIMENTOS  
(CONTINUACION)**

<b>EXPERIMENTO</b>	<b>RENDIMIENTO OBSERVADO (%)</b>	<b>RENDIMIENTO PREDICHO (%)</b>	<b>RESIDUALES (%)</b>
10	40.18	42.09	-1.91
11	54.16	52.45	1.71
12	32.64	38.61	-5.97
13	39.10	32.20	6.90
14	57.63	56.00	1.63
15	13.11	5.65	7.46
16	35.36	35.26	0.20
17	47.07	52.45	-5.38

Mediante el análisis de varianza se obtuvieron los siguientes resultados:

**TABLA No. "3"**

**ANALISIS DE VARIANZA PARA RENDIMIENTO**

Origen	df	SS	MS	Razón-F
Total (corregido)	16	4396.14		
Regresión	9	4021.65	446.85	
Residual	7	374.49	53.50	8.353 (1)
Falta de Ajuste	4	327.58	81.90	
Error Puro (3)	3	46.90	15.63	5.238 (2)

(1) Implica 98.8% de confiabilidad en la ecuación de regresión

(2) Implica 12.4% de confiabilidad en el error puro = 12.4%

(3) Determinado de los experimentos 17, 7, 11 y 8

Obteniendo como ecuación de respuesta (Rendimiento Calculado):

$$= -57.99 + 7.935 * \text{Amoniac} - 3.1397 * \text{Bisulfito} + 4.7288 * \text{Grados} + 0.8878 * \text{Amoniac} * \text{Bisulfito} - 0.02911 * \text{Amoniac} * \text{Grados} + 0.04250 * \text{Bisulfito} * \text{Grados} - 0.5223 * \text{Amoniac}^2 - 0.6082 * \text{Bisulfito}^2 - 0.07162 * \text{Grados}^2.$$

Lo que dá como resultado las siguientes condiciones, para un rendimiento máximo de acuerdo al diseño de experimentos manejado.

**TABLA No "4"**

**CONDICIONES OPTIMAS  
PRIMER DISEÑO DE EXPERIMENTOS**

REACTIVO	CANTIDAD
Amoniaco	11.8 ml.
Bisulfito de sodio	6.0 g.
Temperatura	32.4 °C

Con dichas condiciones el rendimiento máximo que se puede obtener de acuerdo a la respuesta obtenida es de 60.21%, como clorhidrato del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo.

Las condiciones óptimas fueron aplicadas en varias pruebas, dando los siguientes resultados.

**TABLA No. "5"**

**RENDIMIENTO DEL CLORHIDRATO DE  $\alpha$ -D,L-AMINOFENILACETONITRILO.  
CONDICIONES OPTIMAS DEL PRIMER DISEÑO DE EXPERIMENTOS.**

EXPERIMENTO	RENDIMIENTO (%)
1	79.76
2	80.63
3	81.50

Los cuales, como se observan, no son congruentes con lo predicho por el diseño de experimentos. por lo que se procedió a un segundo diseño de experimentos, ya que para el primer diseño de experimentos se obtuvieron residuales muy grandes y el error puro es muy alto, de tal forma que el diseño de experimentos no se puede tomar como muy confiable, por lo que se tuvieron que realizar una serie de ajustes.

En el segundo diseño de experimentos se mantuvieron las mismas precauciones, para evitar variaciones adicionales siendo las variables independientes las mismas, con las únicas diferencias de que el tiempo de agitación para la formación del compuesto de adición bisulfítica, se fijó esta vez en 30 minutos a diferencia del primer diseño de experimentos que fué de 15 minutos, y de que el bisulfito de sodio para cada experimento se disolvió en una cantidad de agua y metanol proporcional a la utilizada para 6 gramos de bisulfito de sodio, (10 ml. de H<sub>2</sub>O y 3 ml. de metanol). Así por ejemplo, 8 gramos de bisulfito de sodio se disolvieron en 13.3 ml. de H<sub>2</sub>O y 4 ml. de metanol. De esta manera los límites, en este caso para el bisulfito de sodio fueron de 4 g a 8 g, en cuanto al amoniaco fueron de 8 ml. a 12 ml. y la temperatura se varió de 20 °C a 40 °C. En este caso y por las mismas razones antes expuestas, también se formó el clorhidrato del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo, de manera que los rendimientos reportados. son con respecto a este compuesto.

Así, tanto la serie de experimentos, como las respuestas obtenidas para el segundo diseño de experimentos se muestran en la tabla No "6".

TABLA No "6"

SEGUNDO DISEÑO DE EXPERIMENTOS EN LA SINTESIS DE  $\alpha$ -D,L-  
AMINOFENILACETONITRILLO.

EXP.	AMONIACO (ml)	TEMPERATURA (° C)	BISULFITO DE SODIO (gramos)	REND. (%)
1	8.0	20.0	4.0	62.45
2	10.0	20.0	4.0	70.60
3	12.0	20.0	4.0	79.96
4	8.0	30.0	4.0	82.60
5	10.0	30.0	4.0	85.84
6	12.0	30.0	4.0	84.20
7	8.0	40.0	4.0	70.47
8	10.0	40.0	4.0	75.81
9	12.0	40.0	4.0	72.24
10	8.0	20.0	6.0	74.16
11	10.0	20.0	6.0	85.47
12	12.0	20.0	6.0	87.27
13	8.0	30.0	6.0	63.49
14	10.0	30.0	6.0	69.62
15	12.0	30.0	6.0	73.02
16	8.0	40.0	6.0	73.00
17	10.0	40.0	6.0	80.50
18	12.0	40.0	6.0	80.59

TABLA No "6"

SEGUNDO DISEÑO DE EXPERIMENTOS EN LA SINTESIS DE  $\alpha$ -D,L-  
AMINOFENILACETONITRILLO.  
(CONTINUACION)

EXP.	AMONIACO (ml)	TEMPERATURA (° C)	BISULFITO DE SODIO (gramos)	REND. (%)
19	8.0	20.0	8.0	63.75
20	10.0	20.0	8.0	85.01
21	12.0	20.0	8.0	75.56
22	8.0	30.0	8.0	69.12
23	10.0	30.0	8.0	73.92
24	12.0	30.0	8.0	86.44
25	8.0	40.0	8.0	70.42
26	10.0	40.0	8.0	72.43
27	12.0	40.0	8.0	73.23

Los resultados antes tabulados, fueron alimentados al programa de diseño de experimentos X-Stat, mediante el cual se obtuvieron los siguientes datos:

RENDIMIENTO

Error típico de la estima  $[\sum(\text{residual})^2 / \text{Grados de libertad}]^{1/2} = 6.901$

Coefficiente de correlación  $[\text{Variación explicada} / \text{Variación total}] \times 100 = 42.03\%$

Modelo = cuadrático

**TABLA No. "7"**

**RESIDUALES PARA EL RENDIMIENTO  
SEGUNDO DISEÑO DE EXPERIMENTOS**

<b>EXPERIMENTO</b>	<b>RENDIMIENTO OBSERVADO (%)</b>	<b>RENDIMIENTO PREDICHO (%)</b>	<b>RESIDUALES (%)</b>
1	62.45	68.04	-5.59
2	70.60	77.39	-6.79
3	79.96	80.47	-0.51
4	82.60	72.16	10.44
5	85.84	78.98	6.86
6	84.20	79.54	4.66
7	70.47	73.65	-3.18
8	75.81	77.95	-2.14
9	72.24	75.99	-3.75
10	74.16	68.59	5.57
11	85.47	78.86	6.61
12	87.27	82.86	4.41
13	63.49	71.56	-8.07
14	69.62	79.31	-9.69
15	73.02	89.79	-7.77
16	73.00	71.91	1.09
17	80.50	77.14	3.36
18	80.59	76.09	4.50

**TABLA No. "7"**  
**RESIDUALES PARA EL RENDIMIENTO**  
**SEGUNDO DISEÑO DE EXPERIMENTOS**  
**(CONTINUACION)**

EXPERIMENTO	RENDIMIENTO OBSERVADO (%)	RENDIMIENTO PREDICHO (%)	RESIDUALES (%)
19	63.75	66.90	-3.15
20	85.01	78.09	6.92
21	75.56	83.02	-7.46
22	69.12	68.72	0.40
23	73.92	77.39	-3.47
24	86.44	79.80	6.64
25	70.42	67.93	2.49
26	72.43	74.08	-1.65
27	73.23	73.95	-0.72

Mediante el análisis de varianza se obtuvieron los siguientes resultados:



**TABLA No. "8"**  
**ANALISIS DE VARIANZA PARA EL RENDIMIENTO**

Origen	df	SS	MS	Razón-F
Total (corregido)	26	1396.6		
Regresión	9	587.0		
Residual	17	809.6	65.22	1.370 (1)

(1) Implica 72.1% de confiabilidad en la ecuación de regresión

Obteniendo como ecuación de respuesta:

$$-73.36 + 20.382 * \text{Amoniaco} + 2.3042 * \text{Grados} + 2.3826 * \text{Bisulfito} - 0.12608 * \text{Amoniaco} * \text{Grados} + 0.23042 * \text{Amoniaco} * \text{Bisulfito} - 0.05729 * \text{Grados} * \text{Bisulfito} - 0.7837 * \text{Amoniaco}^2 - 0.01310 * \text{Grados}^2 - 0.28042 * \text{Bisulfito}^2$$

Lo que dá como resultado las siguientes condiciones, para un rendimiento máximo de acuerdo al diseño de experimentos manejado.

**TABLA No "9"**  
**CONDICIONES OPTIMAS**  
**SEGUNDO DISEÑO DE EXPERIMENTOS**

REACTIVO	CANTIDAD
Amoniaco	12.0 ml.
Bisulfito de sodio	7.13 g.
Temperatura	20.0 °C

Con dichas condiciones el rendimiento máximo que se puede obtener de acuerdo a la respuesta obtenida es de 83.2%, como clorhidrato del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo.

Las condiciones óptimas fueron comprobadas en varias pruebas, dando los siguientes resultados.

**TABLA No. "10"**

**RENDIMIENTO DEL CLORHIDRATO DE  $\alpha$ -D,L-AMINOFENILACETONITRILLO.  
CONDICIONES OPTIMAS DEL SEGUNDO DISEÑO DE EXPERIMENTOS.**

EXPERIMENTO	RENDIMIENTO (%)
1	85.66
2	88.33
3	82.15

El compuesto  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo se identificó por espectrofotometría en I.R (Espectro No. "1") y RMN-H<sup>1</sup> (Espectro No. "2"), presentando las siguientes señales:

**ESPECTRO No. "1".**

- C-H Saturado 2900-3000
- C-H Insaturado 3040-3080
- C-C Aromático 1590-1600

Sobretonos de anillo monosustituído

1700-2000

880

	690-710
	750-780
-NH <sub>2</sub>	3200-3400
-C≡N	2240-2250

**ESPECTRO No. "2".**

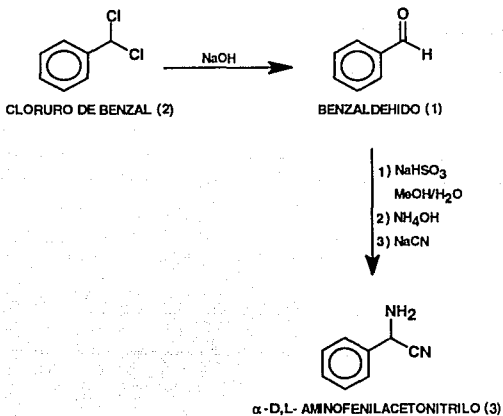
Bencilo unido a -CH: 7.3 ppm señal de multiplete;

Metino unido a bencilo, nitrilo y amina: 4.8 ppm señal de singulete;

Hidrógenos de amina: 1.9 ppm señal de singulete.

Como se observa en la tabla No. "10", los resultados en este segundo diseño de experimentos no son del todo congruentes con lo predicho por el diseño de experimentos manejado ya que el coeficiente de confianza para las variables "Grados y Gramos de bisulfito" son muy bajas, de modo que analizando el proceso involucrado, se piensa que las variables incluidas en este paso de formación del compuesto  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetronitrilo son demasiadas y no están del todo controladas, por lo que se cree que es necesario en un futuro hacer una separación en este paso del experimento y analizar en primer lugar la formación del compuesto de adición bisulfítica, aplicando en este paso un diseño de experimentos. Ya optimizada la formación del compuesto de adición bisulfítica se procederá a optimizar la formación del compuesto  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetronitrilo(3), aplicando un diseño de experimentos. Se piensa que de esta manera se evita que las variables del primer paso, la formación del compuesto de adición bisulfítica, no influyan en las respuestas del segundo y así sucesivamente, para obtener de esta manera una respuesta más confiable y exacta.

2) SINTESIS DE  $\alpha$ -D,L-AMINOFENILACETONITRILO, A PARTIR DE CLORURO DE BENZAL.



ESQUEMA No. "27"

En este caso también se realizaron varias pruebas de la ruta sintética, siguiendo el procedimiento ya reportado<sup>54</sup> para la síntesis de  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetonitrilo(3), pero las condiciones se modificaron, ya que en el procedimiento original se manejaba un pH=1, formándose HCN, el cual es altamente tóxico, obteniéndose sin embargo los siguientes resultados:

**TABLA No. "11"**

**RENDIMIENTO DEL CLORHIDRATO DE  $\alpha$ -D,L-AMINOFENILACETONITRILLO  
A PARTIR DE CLORURO DE BENZAL.**

EXPERIMENTO	RENDIMIENTO (%)
1	50.36
2	52.46
3	47.17

Cabe hacer la aclaración que en este proceso de síntesis el producto obtenido, antes de ser llevado al clorhidrato correspondiente, era invariablemente un aceite amarillo a diferencia del producto obtenido por la ruta sintética antes utilizada, en cuyo caso se obtenía un sólido amarillo pálido.

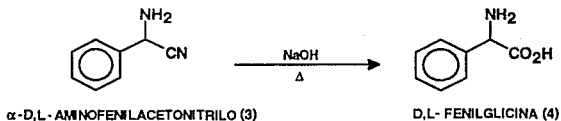
Por la alta peligrosidad que implica utilizar la ruta sintética antes mencionada, se cambió el orden de adición de los reactivos que se siguió en el caso de la síntesis a partir de benzaldehído. es decir, una vez neutralizada la solución, se formó el compuesto de adición bisulfítica, adicionando posteriormente el amoníaco y finalmente el cianuro de sodio, a una temperatura de 20°C, teniendo de esta manera un pH básico. Manejando también las condiciones óptimas ya obtenidas en el segundo diseño de experimentos descrito con anterioridad, se obtuvieron finalmente los siguientes resultados:

TABLA No "12"

RENDIMIENTO DEL CLORHIDRATO DE  $\alpha$ -D,L-AMINOFENILACETONITRILO  
A PARTIR DE CLORURO DE BENZAL.

EXPERIMENTO	RENDIMIENTO (%)
1	71.14
2	72.35

3) HIDROLISIS DE  $\alpha$ -D,L-AMINOFENILACETONITRILO. OBTENCION DEL  
AMINOACIDO D,L-FENILGLICINA.



ESQUEMA No. "28"

En la hidrólisis del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetonitrilo(3), se probaron condiciones de reacción para efectuar una hidrólisis básica ó una hidrólisis ácida, para elegir las mejores condiciones en las que se obtenía un rendimiento más alto de D,L-Fenilglicina(4), los resultados obtenidos fueron los siguientes.

TABLA No. "13"

HIDROLISIS DEL  $\alpha$ -D,L-AMINOFENILACETONITRILLO

HCl 5 N			NaOH 6N		
EXP.	CALENT. A REFLUJO (hrs.)	REND. (%)	EXP.	CALENT. A REFLUJO (hrs.)	REND. (%)
1	2	10.71	1	2	16.47
2	5	28.33	2	5	47.08
3	7	29.06	3	7	51.75

De esta manera se observó que la hidrólisis básica con NaOH 6N, era más adecuada. utilizando un volumen de 50 ml de sosa por 5.0 g. de  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetnitrilo. que la hidrólisis ácida con HCl 6N, por lo que se procedió a realizar un diseño de experimentos tradicional, manejando las condiciones mencionadas anteriormente y otro método reportado en la literatura para un compuesto análogo, con el cual se obtenían excelentes rendimientos; empleando 70 ml. de NaOH 2.5 N, por 5.0 g. de  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetnitrilo. Así mismo, se experimentó también el uso de un catalizador: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 30% como una opción para aumentar el rendimiento. El volumen de dicho catalizador, utilizado en todos los casos fué de 0.5 ml.

La serie de experimentos realizada, así como los resultados obtenidos, se muestran a continuación:

TABLA No. "14"

HIDROLISIS DE  $\alpha$ -D,L-AMINOFENILACETONITRILLO

CALENT. A REFLUJO (hrs.)	REND. CON NaOH 6N (%)	REND. CON NaOH 6N Y H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 30% (%)	REND. CON NaOH 2.5 N (%)	REND. CON NaOH 2.5 N Y H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 30% (%)
5	46.57	45.10	48.92	48.42
7	53.02	55.48	51.58	30.65
11	62.39	54.44	58.17	46.05
14	65.88	53.75	59.17	26.25
17	48.06	55.04	60.35	51.12
20	56.73	49.31	60.77	51.66
23	53.71	44.83	32.02	55.26
26	58.04	65.76	67.15	58.69

Como se observa, en general los rendimientos fueron bajos, lo cual se atribuyó a la descomposición del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetónitrilo al ser expuesto a altas temperaturas, ya que la mezcla de reacción se calentaba a temperatura de reflujo, por lo que parte del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetónitrilo se descomponía antes de ser hidrolizado, para evitar este problema se pensó en utilizar un co-disolvente (en este caso metanol), en el cual era disuelto el  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetónitrilo, para calentarlo posteriormente, los resultados de este experimento se muestran a continuación.



**TABLA No "15"**

**HIDROLISIS DE  $\alpha$ -D,L-AMINOFENILACETONITRILLO  
EMPLEO DE UN CO-DISOLVENTE**

EXPERIMENTO	CALENT. A REFLUJO (hrs.)	RENDIMIENTO CON NaOH 6N (%)	RENDIMIENTO CON NaOH 2.5 N (%)
1	5	21.64	22.66

El rendimiento no se mejoró, esto tal vez debido, a que el  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetnitrilo no es estable frente a soluciones acuosas.

El producto D,L-Fenilglicina se identificó mediante por espectrofotometría en I.R.(Espectro No. "3"). presentando las siguientes señales:

-COO-H            2500-3200

-C-C Aromático   1590-1600

Sobretonos de anillo monosustituído

1700-2000

900

690-710

700-740

Observándose también las señales características de los aminoácidos:

(COO)-            1610-1650

NH<sub>3</sub><sup>+</sup>  $\delta$         1480-1550



En este caso se estudio el efecto que tendría en la resolución la modificación de las siguientes variables: cantidad de agua, tiempo de calentamiento a reflujo y tiempo de reposo, para la separación de la sal, siguiendo un diseño de experimentos tradicional. Dentro de los primeros experimentos que se efectuaron de ésta resolución, se variaron la cantidad de agua y el tiempo de calentamiento a reflujo, cuyos resultados se muestran en la tabla siguiente:

**TABLA No. "16"**

**RESOLUCION DEL AMINOACIDO D,L-FENILGLICINA**

VOLUMEN DE AGUA (ml)	CALENT. A REFLUJO (hrs.)	TIEMPO DE REPOSO (hrs.)	ROTACION ESP. ( <sup>o</sup> )	EXCESO ENANTIOMERICO (%)*	REND. QUIM. (%)
10	6	Al enfriar	-42.00	84.51	42.50
15	6	Al enfriar	-44.20	88.93	47.00
25	4	48	-43.60	87.73	42.00
25	6	4	-42.85	86.22	40.00
40	2	91	-34.50	69.42	42.35
40	5	94	-48.70	97.98	39.42
50	2	120	-42.40	85.31	42.09

\*Determinado respecto a la rotación óptica reportada en la literatura, que es  $[\alpha]_D = -49.7$ .

De acuerdo a los resultados obtenidos, se observa que es determinante la cantidad de agua para obtener rendimientos ópticos aceptables. No obstante que con una mayor cantidad de agua, se obtiene una mejor forma cristalina el proceso de cristalización es más lento.

Debido a que las mejores condiciones son cuando se emplean 15 ml de agua y se calienta a reflujo por 6 horas, se diseñó una serie de experimentos empleando la misma cantidad de agua en ellos y variando el tiempo de calentamiento a reflujo, con el fin de verificar de que el tiempo elegido fuera el correcto. Se obtuvieron los siguientes resultados:

**TABLA No. "17"**

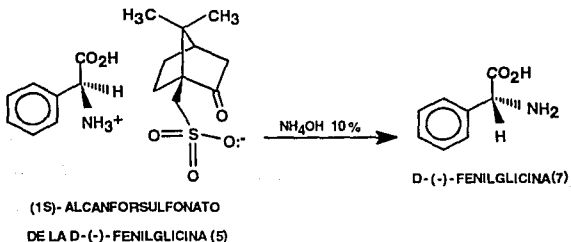
**RESOLUCION DEL AMINOACIDO D.L-FENILGLICINA  
VERIFICACION DEL TIEMPO DE CALENTAMIENTO A REFLUJO**

CALENT. A REFLUJO (hrs.)	RENDIMIENTO QUIMICO (%)	ROTACION ESPECIFICA OBSERVADA ( <sup>o</sup> )	EXCESO ENANTIOMERICO (%) <sup>a</sup>
1.5	79	-18.0	36.22
2.0	84	-29.0	58.35
5.0	86	-48.7	97.98
6.0	94	-44.2	88.93

\*Determinado respecto a la rotación óptica reportada en la literatura, que es de  $[\alpha] = -49.7^\circ$ .

Como se puede observar en la tabla No. "16", a las 5 horas de calentamiento a reflujo, se obtiene una buena rotación específica ( $-48.7^\circ$ ), con rendimientos químicos aceptables (86%). Sin embargo, a las 6 horas de calentamiento a reflujo, el rendimiento químico se incrementa (94%), aunque se obtiene una rotación óptica menor ( $-44.2^\circ$ ), por lo que se puede elegir entre obtener un rendimiento químico alto con una rotación óptica buena, o una rotación específica alta con un rendimiento químico aceptable.

#### 5) OBTENCION DEL AMINOACIDO LIBRE D-(-)-FENILGLICINA.



#### ESQUEMA No. "30"

Para llevar a cabo la liberación de la sal se probaron distintas bases, reportadas en la literatura: NaOH,  $\text{NH}_4\text{OH}$  concentrado,  $\text{NH}_4\text{OH}$  10%. Los resultados obtenidos se muestran en la tabla No. "18".

**TABLA No. "18"**  
**OBTENCION DE AMINOACIDO LIBRE D-(-)-FENILGLICINA.**

BASE UTILIZADA PARA NEUTRALIZAR	RENDIMIENTO (%)	ROTACION ESPECIFICA OBSERVADA (°)	EXCESO ENANTIOMERICO (%)
NaOH	0.0	—	—
NH4OH conc.	29.00	-151	95.7
NH4OH 10%	52.72	-153	96.9

La mejor rotación específica determinada por polarimetría para el aminoácido D-(-)-Fenilglicina fué de  $[\alpha] = -153^\circ$  correspondiente a un exceso enantiomérico de 96.9% con un rendimiento químico de 53% (respecto al 100%).

El compuesto D-(-)-Fenilglicina se identificó mediante espectrofotometría de I.R. (Espectro No. "4"), presentando las siguientes señales:

-COO-H                      2500-3200

Observándose también las señales características de los aminoácidos:

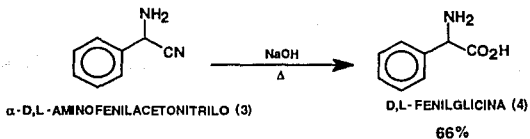
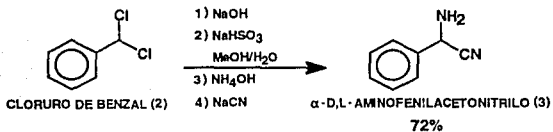
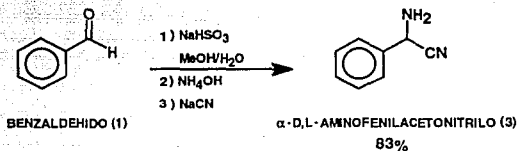
(COO)-                      1610-1650

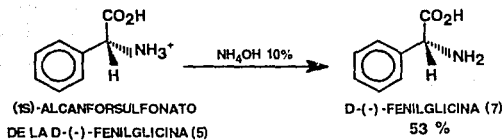
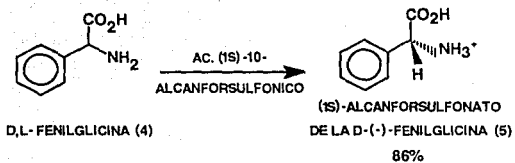
NH3+  $\delta$                       1480-1550

Y posiblemente el Switterion en 1595.

Este espectro coincide perfectamente con el realizado para una muestra del aminoácido D-(-)-Fenilglicina comercial (Espectro No. "5"), ya que presentan las mismas señales a los mismos desplazamientos.

Resumiendo lo anteriormente expuesto, a continuación se muestra un esquema con los mejores rendimientos obtenidos hasta el momento;





ESQUEMA No. "31"

Los rendimientos reportados en el esquema No. "31" se obtuvieron utilizando las siguientes condiciones de reacción:



TABLA No. "19"

RESULTADOS FINALES

ETAPA	CONDICIONES OPTIMAS	RENDIMIENTO (%)
Síntesis de $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo(3) a partir de benzaldehído(1).	12ml. de Amoniaco,7.13 g. de Bisulfito de sodio y Temperatura de 20°C	83.2
Síntesis de $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo(3) a partir de cloruro de benzal(2).	12ml. de Amoniaco,7.13 g. de Bisulfito de sodio y Temperatura de 20°C	72.3
Hidrólisis de $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo(3).	50 ml. de NaOH 6N. tiempo de calentamiento a reflujo 14 horas.	65.88
Resolución de D,L-Fenilglicina(4).	15 ml de H <sub>2</sub> O y tiempo de calentamiento a reflujo de 5 horas.	$[\alpha] = - 48.7^\circ$ , e.e. 97.98% y rendimiento químico de 86.00%
Obtención del aminoácido libre D-(-)- Fenilglicina(7).	Neutralización con NH <sub>4</sub> OH 10%	$[\alpha] = - 153^\circ$ , e.e 96.9 % y rendimiento químico de 52.72%

Todavía falta por efectuar, la optimización de la obtención del clorhidrato del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo en dos etapas así como la hirólisis y resolución mediante el diseño de experimentos utilizando el programa de computo X-Stat.

La optimización global se efectuó en la primera parte de la síntesis, es decir, la obtención del clorhidrato del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo. Los resultados obtenidos hasta el momento indican que la optimización por el diseño de experimentos es una mejor opción con respecto a la optimización tradicional, que consiste en mantener constantes las variables y modificar una a la vez, aunque parezca muy laboriosa.

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

El progreso de las reacciones así como la pureza de las mismas se siguió por c.c.f. utilizando cromatoplasas Merck de sílica gel 60 (0.25 mm. de espesor y aproximadamente 2.5 cm. de ancho por 5 cm. de largo.).

La pureza del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetónitrilo se determinó por HPLC, utilizando una columna de fase inversa C<sub>18</sub>, con Detector de Índice de Refracción Diferencial, usando como fase móvil MeOH/H<sub>2</sub>O, 70:30 a 1 ml/min.

Los compuestos se identificaron por espectrofotometría en I.R. en un Espectrofotómetro de Infrarrojo modelo 1320, Perkin Elmer y mediante RMN-H<sup>1</sup> en un espectrómetro Varian EM-390 utilizando como disolvente CDCl<sub>3</sub> y tetrametilsilano (TMS) como referencia interna.

La rotación específica de los compuestos ópticamente activos se determinó mediante polarimetría en un Polarímetro modelo 241, Perkin Elmer.

### -PURIFICACIÓN DE MATERIAS PRIMAS.

•Benzaldehído: Se destiló a presión reducida, burbujeándole posteriormente una corriente de nitrógeno y fué ampolletado en frascos color ámbar, hasta el momento de su uso.

•Cloroformo: Se lavó con ácido sulfúrico concentrado, después con agua y posteriormente se calentó a reflujo con sulfato de sodio anhidro. Finalmente se destiló, almacenándolo en un frasco color ámbar, a bajas temperaturas.

### -SINTESIS DE $\alpha$ -D,L-AMINOFENILACETONITRILLO A PARTIR DE BENZALDEHIDO.

A un matraz de fondo redondo con tres juntas esmeriladas (24/40) con capacidad de 100 ml, se le adaptó en una de ellas un termómetro, en otra un

tapón esmerilado que permitía la adición de reactivos, y en la tercera boca se adaptó un agitador mecánico.

El equipo se colocó en un baño de agua a la temperatura elegida, la cual se mantiene a través de todo el experimento.

Se adicionaron al matraz, 5 g de benzaldehído ( $4.8 \text{ ml}$ ,  $4.72 \times 10^{-2} \text{ mol}$ ) y se dejó reposar aproximadamente 10 minutos, para igualar la temperatura interna con la temperatura del baño. Una vez transcurrido el tiempo, se adicionó la cantidad de bisulfito de sodio necesaria, disuelta previamente en una solución de agua/metanol. En la tabla No. "20" se mencionan las cantidades de bisulfito de sodio manejadas en los distintos experimentos, así como la relación agua/metanol en la que éste fué disuelto.

**TABLA No. "20"**  
**RELACION MOLAR DE BISULFITO DE SODIO**  
**PARA 5 g DE BENZALDEHIDO**

BISULFITO DE SODIO (gramos)	BISULFITO DE SODIO ( $\text{mol} \cdot 10^{-2}$ )	RELACION AGUAMETANOL (ml.)
1	0.646	10.0/3.0
2	1.292	10.0/3.0
4	2.583	6.7/2.0
6	3.875	10.0/3.0
7	4.525	10.0/3.0
8	5.166	13.4/4.0

La mezcla de reacción se agitó; durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo se adicionó la cantidad correspondiente de hidróxido de amonio, agitando por 90 minutos más.

**TABLA No. "21"**  
**RELACION MOLAR DEL HIDROXIDO DE AMONIO**  
**PARA 5 g DE BENZALDEHIDO**

AMONIACO (ml.)	AMONIACO (mol $\cdot$ 10 <sup>-2</sup> )
0.75	0.538
3.00	2.152
7.50	5.380
8.00	5.739
10.00	7.174
12.00	8.609
14.25	10.223

Una vez que transcurrió el tiempo de reacción, se adicionaron 2.4 g (4.89 x 10<sup>-2</sup> mol) de cianuro de sodio, continuando la agitación por 90 minutos más.

Una vez que concluyó la reacción, se extrae el producto de la misma con cloroformo (100 ml). El disolvente se eliminó a presión reducida en un rotavapor, obteniéndose como producto un sólido ligeramente amarillo pálido, el cual corresponde al compuesto  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetnitrilo.

Antes de evaporar el disolvente, a la fase orgánica se le pasó una corriente de ácido clorhídrico gas para formar el clorhidrato del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetnitrilo, el cual es estable, a diferencia del compuesto  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetnitrilo, que es inestable. Este procedimiento se siguió durante la realización del primer y segundo diseño de experimentos, utilizando el programa X-Stat.

El compuesto  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetnitrilo se identificó por espectrofotometría en I.R (Espectro No. "1") y RMN- $H^1$  (Espectro No. "2"), presentando las siguientes señales:

**ESPECTRO No. "1".**

-C-H Saturado	2900-3000
-C-H Insaturado	3040-3080
-C-C Aromático	1590-1600

**Sobretonos de anillo monosustituido**

	1700-2000
	880
	690-710
	750-780
-NH <sub>2</sub>	3200-3400
-C $\equiv$ N	2240-2250

**ESPECTRO No. "2".**

Bencilo unido a -CH: 7.3 ppm señal de multiplete;

Metino unido a bencilo, nitrilo y amina: 4.8 ppm señal de singulete;

Hidrógenos de amina: 1.9 ppm señal de singulete.

## **-SINTESIS DE $\alpha$ -D,L-AMINOFENILACETONITRILLO A PARTIR DE CLORURO DE BENZAL.**

En un matraz de fondo redondo con tres juntas esmeriladas de 100 ml; provisto de termómetro, un agitador mecánico y una canastilla de calentamiento; se adicionaron 2 ml de cloruro de benzal ( $1.56 \times 10^{-2}$  mol) y 14.7 ml de hidróxido de sodio 2N ( $2.94 \times 10^{-2}$  mol); la mezcla de reacción se agitó durante 180 minutos a una temperatura de 80°C y una vez que transcurrió el tiempo de reacción, la temperatura se disminuyó mediante un baño de hielo, hasta 50°C y se neutralizó la solución con ácido clorhídrico concentrado. A esta temperatura se adicionaron entonces 2.425 g de bisulfito de sodio ( $1.56 \times 10^{-2}$  mol), continuando la agitación por 30 minutos más a la misma temperatura ya que la reacción es exotérmica. Posteriormente se adicionaron 4.5 ml de hidróxido de amonio ( $3.23 \times 10^{-2}$  mol) y se agitó la solución por 90 minutos más a la misma temperatura. Finalmente se adicionó 1.125 g de cianuro de sodio ( $2.18 \times 10^{-2}$  mol), y se agitó entonces por 90 minutos también a la misma temperatura.

Una vez concluida la reacción, la mezcla de reacción se trató con cloroformo (100 ml) y se secó con  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidro. El disolvente se eliminó por evaporación a presión reducida en un rotavapor, obteniéndose como producto un sólido ligeramente amarillo correspondiente al compuesto  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetónitrilo.

La fase orgánica, antes de eliminar el disolvente, también puede ser tratada con una corriente de ácido clorhídrico gas, para formar el clorhidrato del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetónitrilo.

### **-HIDROLISIS DEL $\alpha$ -D,L-AMINOFENILACETONITRILLO.**

En un matraz bola de 100 ml, se colocaron 5 g de  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoneitrilo ( $3.788 \times 10^{-2}$  mol) y se adicionaron 50 ml de sosa 6 N ( $30.0 \times 10^{-2}$  mol) ó 70 ml de sosa 2.5 N ( $17.5 \times 10^{-2}$  mol) y 0.5 ml de  $H_2O_2$ , adaptando un refrigerante de agua.

Se colocó el matraz de reacción en una canastilla de calentamiento y bajo agitación magnética, se incrementó lentamente, hasta llegar al punto de ebullición.

Una vez transcurrido el tiempo de calentamiento a reflujo, el producto se decoloró con carbón activado 3 veces y se llevó a pH = 9, se filtraron las sales formadas y el filtrado se llevó a un pH = 7, precipitando el aminoácido D,L-fenilglicina, el cual se filtró, se lavó y se secó al vacío. El rendimiento más alto obtenido, tomando en cuenta el tiempo de calentamiento a reflujo empleado de 14 horas, fué de 66 % con un punto de sublimación de 235-243°C.

El producto D,L-Fenilglicina se identificó mediante por espectrofotometría en I.R.(Espectro No. \*3\*), presentando las siguientes señales:

-COO-H            2500-3200

-C-C Aromático    1590-1600

Sobretonos de anillo monosustituido

1700-2000

900

690- 710

700- 740

Observándose también las señales características de los aminoácidos:

(COO)-            1610-1650

$NH_3^+ \delta$             1480-1550



## -RESOLUCION DEL AMINOACIDO D,L-FENILGLICINA.

En un matraz de fondo redondo de 100 ml se colocaron 3.7 g del aminoácido D,L-fenilglicina ( $2.45 \times 10^{-2}$  mol) y 5.7 g de ácido (1S)-10-alcanforsulfónico ( $2.45 \times 10^{-2}$  mol), se adicionaron 15 ml de agua destilada, y se adaptó un refrigerante de agua, colocando el equipo en un baño de nujol, y con agitación mecánica.

La mezcla de reacción se llevó a temperatura de reflujo, manteniéndolo durante 5 horas. Una vez concluida la reacción, la mezcla se dejó reposar hasta la precipitación de cristales incoloros correspondientes a la sal de (1S)-Alcanforsulfonato de la D-(-)- Fenilglicina. Dichos cristales se filtraron, lavaron y secaron al vacío.

El rendimiento máximo determinado fué de 86%, aclarando que este rendimiento está referido al 50%, que es el máximo ya que las sales distereoisoméricas, se forman en igual proporción del 50% cada una.

La rotación específica de la sal se determinó mediante polarimetría, obteniendo un resultado de  $[\alpha] = -48.7^\circ$ , correspondiente a un exceso enantiomérico de 97.98%, ya que la reportada en la literatura es de  $[\alpha] = -49.7^\circ$ . Para dichos resultados empleó un tiempo de calentamiento a reflujo de 6 horas.

Por otro lado, con un tiempo de calentamiento a reflujo de 5 horas, se logró aumentar el exceso enantiomérico a 97.98%, con una rotación específica de  $[\alpha] = -48.7^\circ$ , aunque el rendimiento se vió disminuído al 86%. Para esto fué necesario variar las variables reportadas en la tabla No. "14".

## **-OBTENCION DEL AMINOACIDO LIBRE D-(-)-FENILGLICINA.**

Un gramo de sal (1S)-Alcanforsulfonato de la D-(-)-fenilglicina se disolvió en 30 ml. de agua, y si es necesario, la solución se decolora con carbón activado. Una vez disuelta la sal, la solución se lleva a pH= 5 ó 6 con hidróxido de amonio al 10%. Los cristales que precipitan, corresponden al aminoácido libre D-(-)-Fenilglicina, estos se filtraron y se secaron al vacío.

El rendimiento máximo determinado en este caso fué de 0.208 g correspondiente a 53% y presentó un punto de fusión de 295-303°C.

La rotación específica determinada por polarimetría para el aminoácido D-(-)-Fenilglicina fué de  $[\alpha] = -153^\circ$  correspondiente a un exceso enantiomérico de 96.9%.

El compuesto D-(-)-Fenilglicina se identificó mediante espectrofotometría de I.R. (Espectro No. "4"), presentando las siguientes señales:

-COO-H	2500-3200
-COO <sup>-</sup>	1570-1630
-NH <sub>3</sub> <sup>+</sup> $\delta$	1440-1470
-Ar-C-H	650- 690

Este espectro coincide perfectamente con el determinado para una muestra del aminoácido D-(-)-Fenilglicina comercial (Espectro No. "5"), ya que presentan las mismas señales a los mismos desplazamientos.

## CONCLUSIONES

-Se efectuó la síntesis del compuesto  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo; precursor del aminoácido D-(-)-Fenilglicina mediante dos rutas sintéticas, las cuales emplean materias primas de fácil adquisición en México, y con la ventaja adicional de que dichas rutas sintéticas son relativamente fáciles. De las dos rutas sintéticas empleadas, se concluye que el mejor método para realizar la síntesis del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo, es aquel en el que se utiliza como materia prima el benzaldehído.

-Se establecieron las condiciones para una hidrólisis básica, mediante la cual se obtiene el rendimiento máximo; tomando en cuenta el tiempo de calentamiento a reflujo empleado de 14 horas; de 66%, el cual por el momento, se piensa que ya no se puede incrementar mediante el procedimiento empleado, debido a la baja estabilidad del  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo frente a soluciones acuosas y a las altas temperaturas empleadas. Esta hipótesis se podría ratificar utilizando un diseño de experimentos, utilizando el programa de cómputo X-Stat.

-Las condiciones de reacción para la resolución de la mezcla racémica de D,L-Fenilglicina, fueron establecidas llegando a un rendimiento casi cuantitativo, empleando como agente quiral el ácido (1S)-10-Alcanforsulfónico, el cual tiene la propiedad de formar sales con la mezcla racémica del aminoácido, que tienen distintas solubilidades, logrando de esta manera separar el isómero de interés: D-(-)-Fenilglicina, mediante la formación de la sal (1S)-Alcanforsulfonato de la D-(-)-fenilglicina, obteniendo una rotación específica para la sal (1S)-Alcanforsulfonato de la D-(-)-Fenilglicina de  $[\alpha] = -48.7^\circ$ , correspondiente a un

exceso enantiomérico de 97.98%, ya que la reportada en la literatura es de  $[\alpha] = -49.7$  y un rendimiento químico del 86%. Para obtener dichos resultados se empleó un tiempo de calentamiento a reflujo de 5 horas.

-En cuanto a la liberación del aminoácido D-(-)-Fenilglicina a partir de la sal (1S)-Alcanforsulfonato de la D-(-)-Fenilglicina, se obtuvo un rendimiento de 53%, aunque con una rotación específica excelente  $[\alpha] = -153^\circ$ , correspondiente a un exceso enantiomérico de 96.9%, por lo que serán necesarios estudios posteriores, para ver la posibilidad de incrementar el rendimiento químico, ya que la rotación específica es muy buena, comparada con la reportada en la literatura que es de  $[\alpha] = -157.8^\circ$ .

-Por lo señalado en los puntos anteriores podemos afirmar que la síntesis y resolución del aminoácido D-(-)-Fenilglicina, presenta grandes posibilidades de ser llevado a una escala de nivel industrial. Sin embargo, se debe tomar en cuenta que aún faltan muchos aspectos de la síntesis por estudiar para diseñar una planta piloto como primer paso. Aspectos como por ejemplo el escalamiento de la ruta sintética, ya que hasta el momento todas las pruebas y experimentos han sido realizados con 5 g. de benzaldehído como materia prima, un análisis de la rentabilidad de la ruta sintética global, y el empleo del diseño de experimentos utilizando el programa de cómputo X-Stat, en la totalidad de la misma, debido a que con la síntesis del aminoácido D-(-)-Fenilglicina, se pretende solucionar el problema de importación de la misma se debe maximizar los rendimientos del proceso global, para lo cual es necesario aplicarlo a cada uno de los pasos intermediarios en la reacción, es decir, se deberá emplear un diseño de experimentos en la síntesis de  $\alpha$ -D,L-aminofenilacetoniitrilo y una vez estudiada esta reacción así como las respuestas del diseño de experimentos, se

debe proceder a aplicarlo al siguiente paso que es la hidrólisis del  $\alpha$ -D,L-amínofenilacetoniitrilo, para obtener el aminoácido D,L-Fenilglicina, y así sucesivamente para los pasos posteriores.

-Ya optimizados los pasos, finalmente se evaluará el proceso total con las respuestas obtenidas en las distintas fases del diseño de experimentos y cuantificar de esta manera la factibilidad de que el proceso sea llevado a una escala de nivel industrial; claro que como este último objetivo implica una evaluación incluso a nivel de ingeniería no fué posible realizarlo, para ser presentado en esta tesis, la cual se limita a la síntesis química y a la implantación del diseño de experimentos en la ruta sintética.

-El programa X-Stat es programa de cómputo para diseño de experimentos el cual simplifica grandemente el trabajo de laboratorio y debería ser implementado en el trabajo cotidiano del Químico con el fin de crear procesos químicos rentables que a su vez produzcan menor cantidad de desechos químicos (Procesos "limpios" ó "blancos") y de esta manera hacer de la Industria Química una industria competitiva a nivel Mundial, en todos los aspectos (económica y ambientalmente).

## BIBLIOGRAFIA

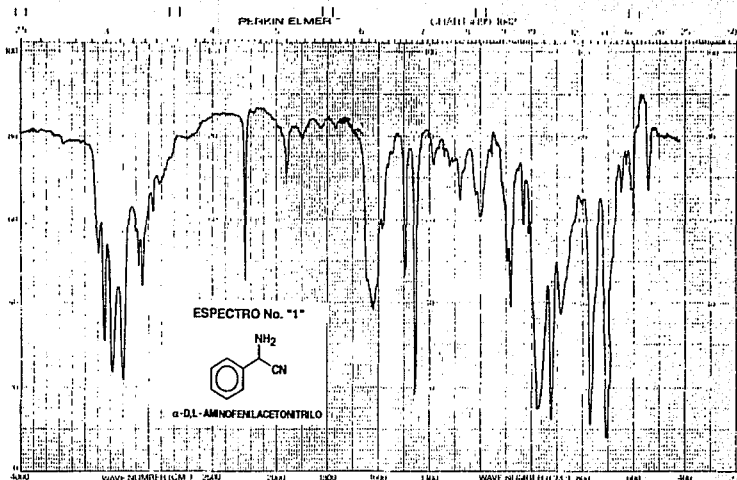
- 1)Mandel, Martin; Rajsner, Miroslav. *Czech. CS 266,791*, 29 Jun 1990, Appl. 88/5,215, 20 jul 1988.
- 2)Zhuang, Youcai. *Faming Zhuanli Shenqing Gongkai Shuom CN 1,030,573*. 25 Jan 1989. Appl. 88,101,221, 02 Mar 1988.
- 3)Schutt, Hermann; Schmidt-Kastner, Guenter; Arwens, Alfred; Preiss, Michael. *Biotechnol. Bioeng.* 1985, 27(4), 420-433.
- 4)Azuma, Shizuo; Hiramatsu, Toshiyuki; Nakagawa, Koji; Yamaji, Teizo; Ichikawa, Yataro. *Eur. Pat. Appl. EP 194,679*, 17 Sep 1986. JP Appl. 85/49,218, 14 Mar 1985.
- 5)Harnoth, Fred; Thoms, Klaus; Lindner, Ingrid; Altmann, Harald; Dube, Guenter; Weng, Dieter. *Ger. (East) DD 264,689*, 08 Feb. 1989. Appl. 308, 205, 23 Oct. 1987.
- 6)Shiraiwa, Tadashi; Ikawa, Akihiko; Tsubokura, Masaya; Sasaki, Yasuyuki; Kurokawa, Hidemoto. *Technol. Rep. Kansai Univ.* 1986, 28, 129-36.
- 7)Rustum, Abu, M., Gutierrez, Lorenzo; *J. Chromatogr.*; 1990. 503 (1), 115-25.
- 8)Thierry, Annette; Wittmann, Jean Claude; Fillon, Bertrand; Meunier, Gilles; Ranceze, Dominique; *Fr. Demande FR 2,656,620*, 05 Jul. 1991. Appl. 90/46, 04 Jan. 1990.
- 9)Urleb, Uros; Krbavcic, Ales; Cop, Andrej; Rotar, Ales; Dernovsek, Istok. *Acta Pharm. Jugosl.* 1985, 35(1), 53-60.
- 10)Kemp, S. Daniel, Vellacio Frank. *Química Orgánica*. Ed. Omega. Barcelona 1986. 2a. Edición.
- 11)Greenstein y Winitz. *Chemistry of the amino acids*. Vol. 1. Ed. John Wiley & Sons. U.S.A, N.Y. 1961. 1a. Edition.

- 12)Takeo, Kaneko and Coll. *Synthetic Production and Utilization of Aminoacids*. Ed. John Wiley & Sons. Japan 1974. 2a. Edition.
- 13)Gary, M. Coppola, Herbert, F. Schuster. *Asymmetric Synthesis*. Ed. John Wiley & Sons. U.S.A. 1987. 1a. Edition.
- 14)A. Strecker. *Ann Chem.*, 75, 27 (1850).
- 15)Schawartz, Jozsef. *Hung.* 154, 410 (Cl. C07c), 27 Feb 1968, Appl. 02 Jul. 1966.
- 16)Neumann, Jiri; Zak, Bohumil *Czech.* 138, 625 (Cl. C07c). 15 Oct. 1970, Appl. 21 May 1968.
- 17)Toth, Gabor; Schwartz, Jozsef; Garamszegi, Ferenc. *Hung.* Teljes 7437 (Cl. C 07c), 28 Dec. 1973, Appl. Cl-1103, 22 Apr 1971.
- 18)Nambu, Tadahiko. *Japan.* 75 01, 016 (Cl. C07C), 14 Jan 1975, Appl. 69 95, 944 27 Nov. 1969.
- 19)Shiota, Tetsuya. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* JP 81, 169, 659 (Cl. C07C101/28), 26 Dec 1981, Appl. 80/74,706, 03 Jun 1980.
- 20)Sizov, S. Yu.; Semenova, L. V.; Utrobin, N.P. (VZOS. Volzhsk. USSR). *Sint. Issled. Nitrosoedin. Aminosokislot* 1983, 38-42.
- 21)H, T. Bucherer and W. Steiner, *J. Prakt. Chem.*, 140, 291 (1934).
- 22)Takano, Seiichi; Akimaya, Masashi; Ogasawara, Kunio. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1984, (12), 770-1
- 23)Morrison, Thornton, Robert. *Química Orgánica*. Ed. Fondo Educativo Interamericano. 2a. Edición. México, 1985. Pag. 398. 468.
- 24)Ermert, Phillip; Mayer, Jsabella; Stucki, Christoph; Schneebeli, Jorg; Obrecht, Jean Pierre. *Tetrahedron Lett.*, 1988, 29(11), 1265-8.
- 25)P. Münster, W. Steglich, *Synthesis* 1987, 223.
- 26)B. Neises, W. Steglich, *Angew. Chem. Int. Ed.* 1978, 17, 522.
- 27)R. M. Secor, *Chem. Rev.*, 63, 297 (1963).

- 28) M. Tsuboi and T. Takenishi, *Bull. Chem. Soc. Japan*, 32, 726 (1959).
- 29) T. Usuki and N. Sato, *Japanese Patent No. 38-17336* (1963).
- 30) I. Sasaji, K. Ohno and J. Kato, *Japanese Patent No. 38-17336* (1963).
- 31) Guenther, K.; Schickedanz, M.; Martens, J. *Naturwissenschaften* 1985, 72 (3), 149-50.
- 32) Santhanam, Chakravarti J. *Brit. J.* 1, 210, 495. (Cl. C 07b), 23 Nov 1967; Appl. 15 Nov. 1966-23 Jun 1967.
- 33) Lindner, Wolfgang F.; Hirschboeck, Irmgard. *J. Liq. Chromatogr.* 1986, 9(2-3), 551-71.
- 34) Yamaguchi, Tomohiko; Sugiura, Masaaki. *Kagaku Seibutsu*. 1985, 23(10), 67B-81.
- 35) Ishihara, Kazuhiko; Susuki, Nanami; Matsui, Kiyohide. *Nippon Kagaku Kaishi*. 1987, (3), 446-51.
- 36) Tanabe Seiyaku Co., Ltd. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* JP 59. 170. 058 [84, 170, 058] (Cl. C07C143/24), 26 Sep. 1984, Appl. 83/43, 582. 16 Mar 1983.
- 37) Kurono, Masayasu; Iida, Takafumi; Hayashi, Katsuhiko; Yagi, Kunio, *Eur. Pat. Appl.* EP 149,885 (Cl. C07B57/00), 31 Jul. 1985, JP Appl. 8417, 259, 20 Jan 1984.
- 38) Shiraiwa, Tadashi; Ikawa, Akihiko; Tsubokura, Masaya; Ssaki, Yasuyuki; Kurokawa, Hidemoto. *Technol. Rep. Kansai Univ.* 1986, 28, 129-36.
- 39) Tadashi, Shiraiwa; Shinji, Sakata; Keiko, Fujishima and Hidemoto Kurokawa. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 1991, 64, 191-195.
- 40) Schawartz, Josef; Eibel, Gyorgy. *Chem. Ind.* 1968, No. 48.
- 41) Riedel-de Haen A. G. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho* 79 48,729 (Cl. C07C101/04), 17 Apr 1979, Appl. 2,738,934, 30 Aug 1977.
- 42) Sutar, I. I.; Srinivasan, M. C.; Varkak, H. G. *Biotechnol. Lett.* 1991, 13(2), 119-24.



- 43) Murakami, Nobuo. *Jpn. Kokai Tokkyo Koho*. JP 0231, 694 [90 31, 694] (Cl. C12P41/100), 01 Feb 1990, JP Appl. 88/85, 330, 08 Apr. 1988.
- 44) Ronald, S. Strange. *J. Chem. Educ.* 1990, 67, 113-115.
- 45) Pignatiello, Joseph; Ramberg, John. *Quality Engineering*. 4(2), 211-225 (1991-92).
- 46) W. Spendley, G. R. Heaxt and F.R. Himsforth; *Technometrics*. 4, (4), 441-61 (1962).
- 47) Long, D. E; *Anal. Chim. Acta*. 46, 193 (1969).
- 48) John Wiley & Sons, Inc. *X-Stat : Diseño estadístico de experimentos, análisis de datos y optimización no lineal*. 1984-9185
- 49) Vázquez Torres Allonso Eduardo "Síntesis de D,L-Fenilglicina. (Acido D,L-Aminofenilacético)". Tesis; Facultad de Química; UNAM; México, D. F. 1991.
- 50) Nicoara, Titus Nicolae. *Rom. RO* 82, 926, (Cl. 07C101/104), 28 Feb. 1984, Appl. 105, 633, 26 Oct. 1981.
- 51) Kurono, Masayasu; Iida, Takafumi; Hayashi, Katsuhiko; Yagi, Kunio, *Eur. Pat. Appl.* EP 149,885 (Cl. C07B57/00), 31 Jul. 1985, JP Appl. 8417, 259, 20 Jan 1984.
- 52) Kessels, Gerard. *Neth Appl.* NL 85 02, 337 (Cl. C07C101/04), 16 Mar 1987. Appl. 85/2, 357, 28 Aug 1985.
- 53) Watanabe, Teiko; Hayashi, Shigeyoshi; Ouchi, Shunji; Senoo, Saburo. *Japan Kokai*. 73 78, 173 (Cl. 16 C64), 20 Oct. 1973, Appl. 72 10, 233, 29 Jan 1972.
- 54) Chavéz, Ortíz, Norma; Juárez, Rodríguez, Leticia; "Estudio sobre reacciones de sustitución nucleofílica sucesivas en sustratos con varios nucleófilos, para dar intermediarios necesarios en la síntesis de productos de interés farmacéutico". Tesis; Facultad de Química; UNAM; México, D.F.; 1992.



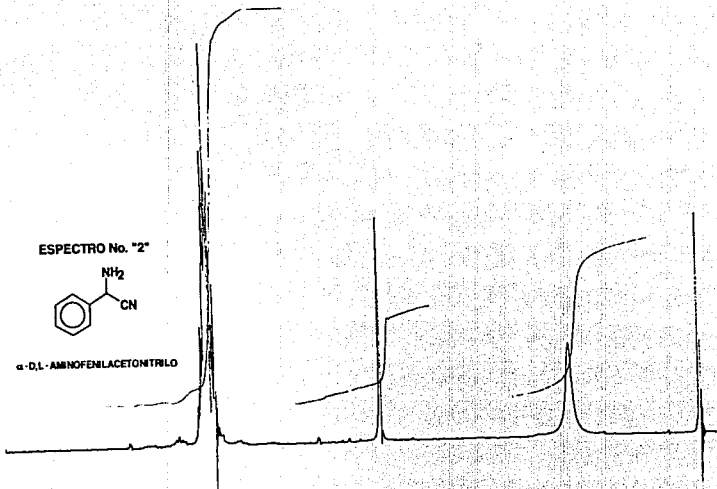
ABSCISSA		ORDINATE		SCANNING	REF. CELLS	SINGLE BEAM	
EXPANSION		CONTRAST		2.5x	1500, 1400	2 / 77	
SUPPRESSION		MIR		0	600, 500, 400	DATE	
SAMPLE <i>α-DL-aminocyanobenzonitrile</i>		REMARKS <i>solida</i>		SOLVENT	CELL PATH <i>1000</i>		
INTRINSIC <i>h.c. Sauer</i>				CONCENTRATION	REFERENCE		

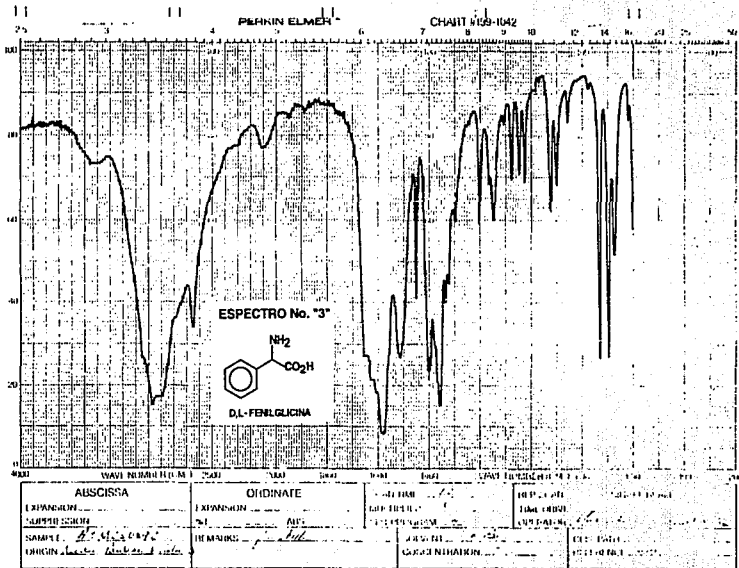
88

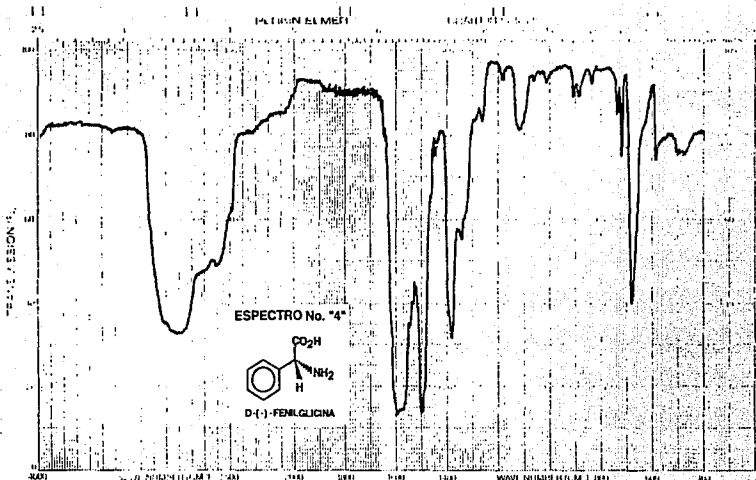
ESPECTRO No. "2"



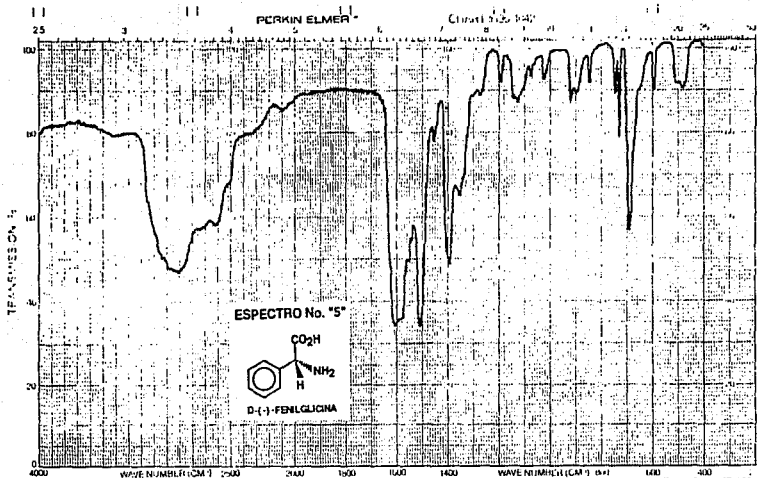
$\alpha$ -D,L-AMINOCIANOBENZONITRILIO







ANALISIS	ORIGINATE	APL. 1254	DATE 11/11/77
EXTENSION	COMPUESTO	SOLVENT	CONCENTRACION
ANALISIS	REMARKS	TEMPERATURE	CELL PATH
SAMPLE D-(-)-FENILGLICINA	patilla	1254	11/11/77
FROM LAB. Santos			DIFFERENCE 11.6



ABSCISSA	ORDINATE	SCAN TIME <u>12</u>	REF. SCAN	SINGLE BEAM
EXPANSION	EXPANSION	1/10 SCALE	DMB 1400	
APPROX. CONC.	REMARKS <u>1.5% in H<sub>2</sub>O</u>	1/10 PROGRAM	1/10 RANGE <u>4000-400</u>	DATE <u>11/54</u>
SAMPLE <u>D (-) PGL</u>		SOLVENT <u>H<sub>2</sub>O</u>	CELL PATH	
ORIGIN <u>Z. L. ...</u>		CONCENTRATION	REFERENCE <u>2000</u>	