

50524
104



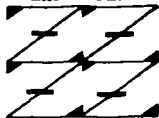
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
"ZARAGOZA"

Síntesis enantioconvergente del
(R)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo.

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
JUAN LEONEL ZAMUDIO VALDES

U N A M
F E S
ZARAGOZA



LO HUMANO EJE
DE NUESTRA REFLEXIÓN

Director de Tesis: M. en C. José Ignacio Regla Contreras
Asesor de Tesis: M. en C. Patricia Demare Negrete

MEXICO, D. F.

MAYO 2003

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A



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 esta 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.

**TESIS
CON
FALLA DE
ORIGEN**

PAGINACION DISCONTINUA

*A MIS PADRES
Y
HERMANOS*

A mi Madre, por desvelarte con migo, por estar en este largo camino, por entenderme y comprenderme en mis malos momentos, por tener las palabras adecuadas para animarme a continuar, por tu cariño y por ser la mejor amiga que tengo, gracias.

A mi Padre, por ser la persona que más admiro y respeto, por tu ejemplo de querer ambicionar una mejor vida y por el enorme apoyo que siempre me brindaste incondicionalmente, gracias.

A mis Hermanos (Guillermo, David, Alberto y Alfredo), por ser los mejores amigos que tengo, por compartir cada una de las metas que me he propuesto, por soportarme, por regresarme a la realidad cuando más falta me hace, les doy las gracias.

JUAN LEONEL ZAMUDIO VALDES

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

B

AGRADECIMIENTOS

A los profesores Patricia Demare e Ignacio Regla, gracias por el apoyo incondicional, por su ayuda y confianza deposita en mi persona.

Al Dr. Eusebio Juaristi por su ayuda en la obtención de los estudios espectroscópicos de este trabajo.

Al Ing. Ordiales por su amistad y ayuda proporcionada en este proyecto.

A la QFB. Juliana Carolina Pérez Reyes por su apoyo, comentarios y por ser parte de este logro.

A mis sinodales por sus comentarios y observaciones.

A mis amigos por la presión ejercida.

*A mis compañeros(as) de laboratorio: Galina, Leticia, Lorena, Roberto, José Luis.,
Jair, Rodrigo y Oscar.*

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de síntesis de medicamentos L-329, de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza-Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del M en C. José Ignacio Regla y la asesoría de la de la M en C. Patricia Demare Negrete.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

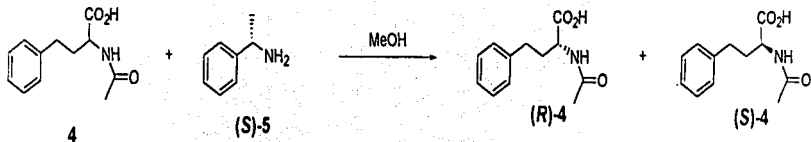
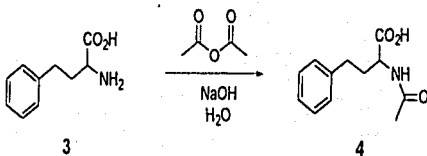
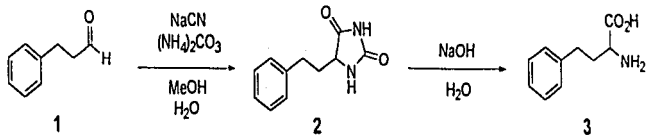
D



Índice

Reacciones.	ii
Índice de compuestos.	iv
Abreviaturas.	v
Resumen.	vi
1. Introducción.	1
2. Fundamentación teórica.	4
3. Planteamiento del problema.	26
4. Objetivos.	27
5. Hipótesis.	28
6. Material y método.	29
7. Parte experimental.	34
8. Resultados y discusión.	39
9. Conclusiones.	53
10. Anexo. (Espectros de RMN ^1H , ^{13}C e IR)	54
11. Referencias bibliográficas.	63

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

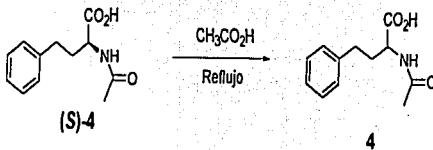
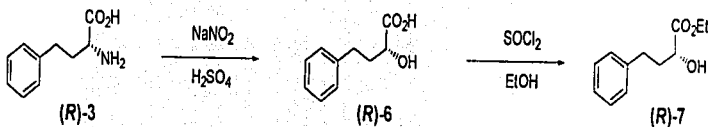
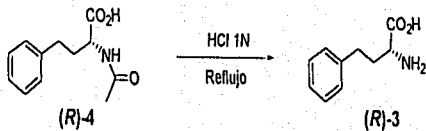


Reacciones

REACCIONES

FALTA DE ORIGEN

REACCIONES



**Índice de compuestos**

Compuesto	Nombre químico	PM (g/mol)
1	3-fenilpropionaldehído	134.18
2	5-feniletíl-imidazolín-2,4-diona	204.23
3	Ácido (R, S)-2-amino-4-fenilbutírico	179.22
(S)-3	Ácido (S)-2-amino-4-fenilbutírico	179.22
(R)-3	Ácido (R)-2-amino-4-fenilbutírico	179.22
4	Ácido (R, S)-2-acetamido-4-fenilbutírico	221.25
(S)-4	Ácido (S)-2-acetamido-4-fenilbutírico	221.25
(R)-4	Ácido (R)-2-acetamido-4-fenilbutírico	221.25
(R, S)-5	Sal diastereomérica	342
(R)-6	Ácido (R)-2-hidroxi-4-fenilbutírico	180.20
(R)-7	(R)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo	208.25
(S)-8	(S)-(-)-Metilbencilamina	121.18

**Abreviaturas**

AcOEt	Acetato de etilo
(R)	Configuración <i>rectus</i> (de acuerdo a la convención de Cahn-Ingold-Prelog)
(S)	Configuración <i>sinister</i> (de acuerdo a la convención de Cahn-Ingold-Prelog)
J	Constante de acoplamiento en Hertz
CCF	Cromatografía en capa fina
δ	Desplazamiento químico
DMSO- <i>d</i> 6	Dimetilsulfóxido deuterado
RMN ¹³ C	Espectroscopía de resonancia magnética nuclear de carbono 13
RMN ¹ H	Espectroscopía de resonancia magnética nuclear de hidrógeno
IR	Espectroscopía de infrarrojo
GR	Grado reactivo
GT	Grado técnico
η	Índice de refracción
MHz	Megahertz
MeOH	Metanol
p.e.	Punto de ebullición
p.f.	Punto de fusión
$[\alpha]_D^{20}$	Rotación específica a 20°C con una línea de sodio a 589 nm
ECA	

TECNICÓN
FALLA DE ORIGEN



Resumen

La hipertensión, o presión arterial elevada se define como una elevación de las presiones sanguíneas sistólica y/o diastólica por encima de 140/90 mm Hg, respectivamente. Se calcula que la prevalencia de hipertensión en los países Latinoamericanos y del Caribe fluctúa entre el **8%** y el **30%**; en consecuencia, es la enfermedad cardiovascular más común en estos países, así como también en países del primer mundo.

Dependiendo de las causas subyacentes de la hipertensión, existen varias estrategias farmacológicas para su tratamiento, entre las cuales, una de las más frecuentemente empleadas es la que involucra el empleo de fármacos inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA).

Para sintetizar este tipo de fármacos, los cuales incluyen en su estructura un dipéptido modificado hay que recurrir a una de las dos estrategias de síntesis: síntesis enantioselectiva o resolución. Esta última opción sólo se vuelve atractiva cuando el enantiómero no deseado puede ser racemizado y reciclado, o bien, en una estrategia poco usual, dicho enantiómero pueda ser empleado en una posterior etapa de la síntesis que contemple una inversión de configuración, lo que se conoce como síntesis enantioconvergente.

Con este trabajo se pretende contribuir al desarrollo de una tecnología original y competitiva para la síntesis del (*R*)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo (**(*R*)-7**), el cual es un intermedio común en la síntesis de varios fármacos inhibidores de la ECA, de los cuales recientemente ha vencido su patente o está próxima a vencer.



Este compuesto ((*R*)-7) no se encuentra disponible comercialmente, debido probablemente a que las empresas prefieren comercializar intermedios más avanzados o productos finales.

En este trabajo se desarrolló una metodología para la obtención del (*R*)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo ((*R*)-7) a partir de materias primas accesibles y de bajo costo, explorando métodos químicos y enzimáticos.



1. Introducción.

México actualmente atraviesa por una compleja transición epidemiológica, que ha sido caracterizada como un modelo prolongado y polarizado, ya que presenta, dentro de las principales causas de muerte, tanto padecimientos propios de los países pobres como enfermedades comunes de los países desarrollados, siendo la hipertensión uno de estos factores. ^[1]

La Organización Mundial de la Salud, informó en 1999 que la cifra de personas que padecían de esta enfermedad, ascendía a aproximadamente 600 millones en todo el mundo y que causaba la muerte de casi tres millones de ellas cada año. Siete de cada diez personas con hipertensión no reciben tratamiento adecuado, de acuerdo con la OMS y la Sociedad Internacional de Hipertensión (SIH). Por su parte, la Organización Panamericana de la Salud estimó que en el transcurso de los próximos diez años, habrá 20.7 millones de muertes por enfermedad cardiovascular, de las que unas 2.4 millones serán atribuibles a la hipertensión arterial, en la región de las Américas. Se calcula que la prevalencia de hipertensión en los países Latinoamericanos y del Caribe fluctúa entre el 8% y el 30%. ^[2]

La hipertensión, o presión arterial elevada, que se define como una elevación de las presiones sanguíneas sistólica y/o diastólica por encima de 140/90 mm Hg, respectivamente, a veces ha sido considerada una enfermedad asintomática o un parámetro físico definido más o menos arbitrariamente. Sin embargo, no cabe la menor duda que se puede considerar una entidad nosológica bien definida y de valor pronóstico incuestionable. Las consecuencias médicas de no tratarla, consideradas en términos de tasas de mortalidad y morbilidad, se manifiestan dando lugar a un riesgo tres veces superior de padecer enfermedad coronaria, fallos cardíacos y accidentes cardiovasculares en general. Así pues, lo que se pretende mejorar con el empleo de los agentes antihipertensores es la disminución de la probabilidad de padecer estos riesgos, más que el tratamiento propiamente dicho de una condición



sintomática específica. En otras palabras, un fármaco antihipertensor no es simplemente un agente hipotensor con un perfil asumible de efectos adversos. Tiene que ser capaz de modificar el curso natural del estado hipertensivo y prevenir las complicaciones de la hipertensión, razón principal del tratamiento. [3]

Las terapias farmacológicas usuales incluyen a los diuréticos, los β -bloqueadores, los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), los antagonistas de los canales de calcio y algunos bloqueadores α -adrenérgicos (Tabla 1 pag. 16). Es costumbre basar la elección inicial del fármaco en las características clínicas de cada paciente. [12]

Los primeros inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA) fueron una serie de péptidos encontrados en el veneno de una víbora brasileña, la *Bothrops jaraca*. A pesar de la capacidad para producir descenso de la presión arterial, el hecho de tener que ser utilizados por vía parenteral y su acción fugaz, los hizo inútiles para la práctica clínica.

En 1977, Cushman y Ondethi [6] sintetizaron el captopril, primer IECA sintético y activo por vía oral. Tras una década de utilización del captopril, han aparecido una multitud de fármacos con capacidad de IECA, y diferentes ventajas terapéuticas, como por ejemplo una vida media más prolongada, lo que permite utilizarlos en una sola dosis diaria. Entre estos fármacos destacan el enalapril, perindopril, lisinopril, quinapril, trandolapril, fosinopril, cilazapril, ramipril y otros todavía en vías de desarrollo. [7]

El objetivo en esta investigación fue desarrollar, en escala de laboratorio, un proceso, técnica y económicamente viable de obtención del (R)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo ((R)-7), importante precursor en la obtención de fármacos inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), como parte de un convenio de desarrollo y transferencia de tecnología entre la UNAM, a través de la



Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, con una empresa nacional, y con esto colaborar en la disminución del problema de dependencia tecnológica de nuestro país.



2. Fundamentación teórica.

2.1 Quiralidad.

A mediados del siglo XIX se conocían varios ejemplos de sustancias con la misma constitución y conectividad, pero que se reconocía que eran distintas. Por ejemplo, el ácido α -hidroxipropiónico (ácido láctico) aislado por Sheele de la leche agria en 1780 no es idéntico al ácido α -hidroxipropiónico encontrado por Berzelius en los tejidos musculares en 1807. Así, Engelhard estableció en 1848 que el ácido proveniente del músculo es dextrógiro (+) mientras que el obtenido por fermentación de la leche es levógiro (-).^[8]

Los trabajos de Pasteur en 1848 con los ácidos tartáricos que presentan el mismo fenómeno condujeron, en 1874, a la proposición hecha por Van't Hoff y Le Bel de que las moléculas que presentan asimetría lo hacen debido a que poseen átomos de carbono sustituidos con cuatro ligandos diferentes y orientados a las esquinas de un tetraedro, en cuyo centro está situado el átomo de carbono.

Existen muchas moléculas orgánicas que difieren solamente en la posición espacial de sus átomos. Tales moléculas pueden compartir ciertas propiedades físicas y químicas y ser muy diferentes de otras. Son tres los aspectos que definen la estructura molecular:

- 1) **Constitución:** átomos que forman parte de la molécula.
- 2) **Conectividad:** como están unidos los átomos entre sí.
- 3) **Configuración:** la configuración se refiere al arreglo en el espacio de sus átomos, excluyendo a aquellos que resulten de la rotación alrededor de enlaces sencillos (confórmeros).



Dos moléculas que difieren en configuración, es decir en la orientación en el espacio de los sustituyentes alrededor del centro de quiralidad y guardan una relación de imágenes en un espejo, son conocidas como enantiómeros. (Figura 1)

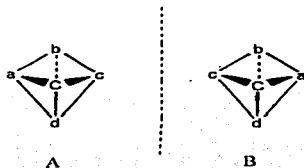


Figura 1. Imagen en el espejo del compuesto A, y su enantiómero B.

Las moléculas enantioméricas muestran idénticas propiedades físicas (punto de fusión, índice de refracción, acidez, etc.) y termodinámicas (energía libre, entalpía, entropía, etc.) excepto en ambientes asimétricos; pueden hacer girar el plano de la luz polarizada, pudiendo ser *levo* rotatorias (giran la luz hacia la izquierda) o *dextro* rotatorias (giran la luz hacia la derecha) y esto se mide en un polarímetro.

Los isómeros configuracionales que no son enantiómeros entre sí, se denominan diastereómeros. Un ejemplo de éstos lo constituyen las estructuras I y III del ácido tartárico, mientras que I y II son formas enantioméricas. (Figura 2)

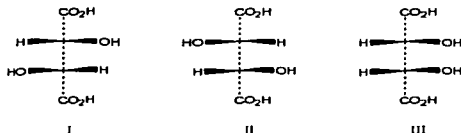


Figura 2. Las estructuras I, II y III indican la relación existente entre las estructuras del ácido tartárico, I y II son enantiómeros, I y III son diastereómeros, II y III son diastereómeros.



La quiralidad es una propiedad netamente geométrica: un objeto es quiral cuando no es superponible con su imagen especular. El ejemplo más común es la relación entre la mano izquierda y la derecha de una persona; otro ejemplo lo constituyen un tornillo de cuerda derecha y uno de cuerda izquierda.

Al extender este concepto a las moléculas orgánicas debe recordarse que éstas, en contraste con los objetos rígidos, son especies conformacionalmente móviles, y por lo tanto, para determinar su superponibilidad con su imagen especular, deben ser analizados todos los posibles conformeros.

2.2 Descriptores estereoquímicos.

Los descriptores estereoquímicos facilitan el señalamiento de la configuración molecular. Diferentes descriptores estereoquímicos son necesarios o convenientes para diferentes tipos de compuestos.

2.2.1 Descriptores DL.

Un sistema de nomenclatura muy empleado para describir la estereoquímica empleando las proyecciones de Fischer es el sistema DL, que es particularmente útil en compuestos del tipo RC^*HXR' .

De acuerdo con esta convención, la cadena principal de átomos de carbono se dispone verticalmente y de manera que el átomo de carbono en el estado de oxidación más alto quede situado en el extremo superior.

Si al colocar ahora los sustituyentes H y X en su configuración correcta, X queda a la derecha, entonces dicha configuración se denomina D. Cuando por el contrario X



queda a la izquierda, entonces dicha configuración se denomina L. Algunos ejemplos se presentan en la (Figura3).

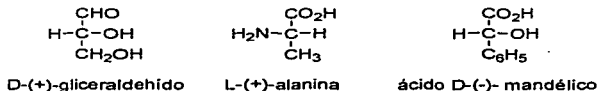


Figura 3. Representación de la configuración DL para el gliceraldehído, alanina y ácido mandélico.

Como es obvio de los ejemplos que se muestran en la Figura 3, no existe una relación entre el símbolo D ó L y la rotación óptica particular de cada compuesto. Este sistema de nomenclatura no se basa en relaciones entre series de compuestos sino en la orientación específica de los sustituyentes de acuerdo a la convención indicada.

El sistema de nomenclatura D, L no se aplica con facilidad a compuestos con más de un centro de quiralidad. Aunque varias ampliaciones de las reglas básicas de este sistema de nomenclatura han sido propuestas, las deficiencias intrínsecas del método propiciaron el desarrollo de un método más general de nomenclatura. Efectivamente, Cahn, Ingold y Prelog propusieron en 1956 el sistema R/S de nomenclatura, que ha sido exitosamente adoptado por la comunidad científica.

2.2.2 Descriptores R/S.

Los símbolos R y S especifican la configuración de un centro de quiralidad conforme al sistema de las reglas de secuencia. Para especificar la configuración de racematos de los compuestos con varios centros de quiralidad, los pares de letras RS y SR son utilizados; así, el descriptor (1RS, 2SR) se refiere al racemato compuesto del enantiómero (1R, 2S) y del enantiómero (1S, 2R).



En este método, se asigna una prioridad a cada uno de los cuatro sustituyentes en torno al átomo estereogénico C_{abcd} . Una vez hecho esto, la molécula se ve desde el lado opuesto al grupo de menor prioridad y entonces se observa en qué dirección se pasa del grupo de mayor prioridad al segundo y al tercero. Si dicha dirección es en el mismo sentido que el movimiento de las manecillas del reloj, tal secuencia (configuración) es *R* (del latín: *rectus* = derecha); cuando, en cambio, el sentido de la secuencia $1 \rightarrow 2 \rightarrow 3$ es opuesto al de las manecillas, tal configuración es *S* (del latín: *sinister* = izquierda). (Figura 4)

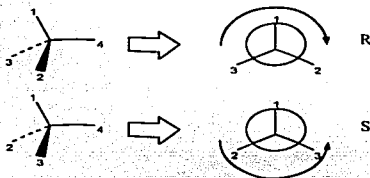


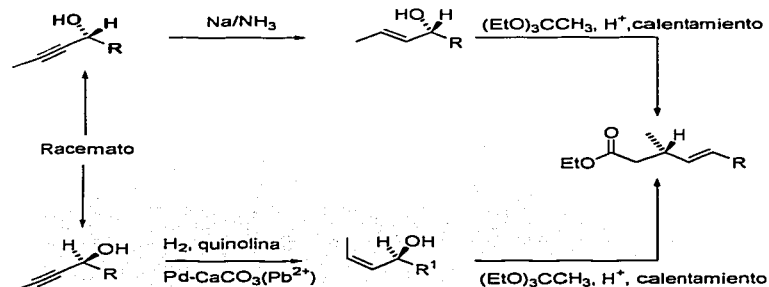
Figura 4. Asignación de la prioridad a cada uno de los cuatro sustituyentes en torno al átomo estereogénico.

2.3 Síntesis enantioconvergente.

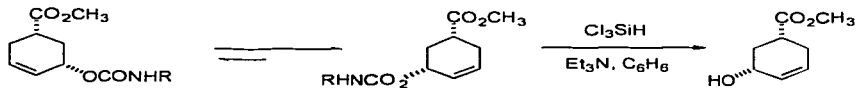
El concepto de enantioconvergencia se aplica cuando ambos enantiómeros de un intermediario sintético pueden ser empleados en la preparación de un compuesto enantioméricamente puro, aunque ha sido aplicado principalmente a las situaciones donde un racemato es resuelto en sus componentes enantioméricos y el enantiómero no deseado es racemizado y reciclado. Alternativamente, cada enantiómero puede ser obtenido a lo largo de diferentes rutas, para confluir en un



mismo producto. La estereoquímica complementaria de las secuencias presentadas en el Esquema 1 proporcionan un ejemplo interesante de la última estrategia.^[9]

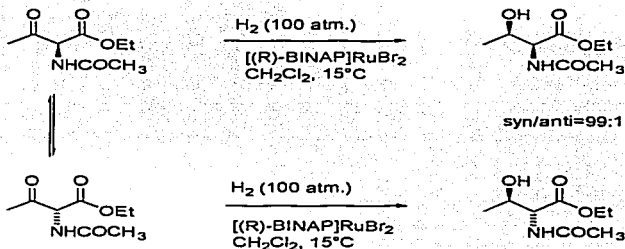


Hay estrategias más eficaces que evitan la necesidad de realizar una resolución formal. En el Esquema 2 se presenta una síntesis enantioselectiva del intermedio de una prostaglandina, que se basó en la adición de un auxiliar quiral sobre un sustrato racémico, que luego fue sometido a un proceso para efectuar una inversión de la configuración del intermedio bajo condiciones de equilibrio. Después de la separación del diastereómero principal, el minoritario fue reequilibrado y reciclado.





Otras estrategias emplean una discriminación cinética entre enantiómeros en equilibrio, en donde uno de ellos es consumido selectivamente, mientras ocurre una racemización *in situ* a mayor velocidad, lo que se conoce como resolución cinética dinámica o retro-racemización. Un ejemplo elegante es la hidrogenación de β -cetoésteres catalizada por BINAP-rutenio (II) para obtener los hidroxiésteres *syn* o *anti*. (Esquema 3)



Esquema 3. Aplicación de resolución cinética dinámica en la reducción de un β -cetoéster racémico.

2.4 Biotransformación.

La biotecnología es una ciencia interdisciplinaria con aplicaciones en muchos campos, como son el de los alimentos y la industria farmacéutica. Una de las definiciones de la biotecnología es la utilización de células o partes de ellas para obtener un producto. [10, 11]

Es indudable la interacción entre la biotecnología y la química, dándose lo que se conoce como biotransformaciones, que pueden ser realizadas con microorganismos vivos o con enzimas. Es éste un campo poco explotado en México, tanto a nivel de investigación como de producción. Una biotransformación puede describirse como



el proporcionar a un microorganismo un sustrato que no es el natural, pero con el que tiene suficientes similitudes estructurales, para que lo incluya en alguna parte de su metabolismo y lo transforme, si tenemos suerte, en el producto que necesitamos.

Los microorganismos vivos o enzimas tienen la capacidad de modificar químicamente una amplia variedad de compuestos orgánicos. Tales cambios son denominados bioconversiones o biotransformaciones. En estas bioconversiones intervienen una o un número pequeño de reacciones enzimáticas, al contrario de las fermentaciones. Se han descrito cientos de diferentes bioconversiones, aunque sólo unas pocas se utilizan comercialmente.

Las ventajas que representa la bioconversión son:

- Especificidad de sustrato: normalmente una enzima cataliza una única etapa específica de reacción.
- Regioespecificidad: si existen en la molécula varios grupos funcionales de un tipo determinado, se afecta solamente una posición específica.
- Estereoespecificidad: si se utiliza una mezcla racémica como material de partida, solamente es convertido un enantiómero.
- Condiciones de reacción: las reacciones enzimáticas no suelen causar la destrucción de sustratos, debido a las suaves condiciones de conversión. Las reacciones enzimáticas también causan menos daños medioambientales ya que tienen lugar principalmente en agua.

Sin embargo también tienen desventajas:

- No es siempre posible tener acceso al enantiómero deseado.
- Frecuentemente se utilizan altas diluciones.
- Con microorganismos se tiene el riesgo de reacciones laterales no deseadas.
- Cuando se emplean enzimas aisladas, se requiere usualmente la adición de cofactores, que son sumamente costosos.



- Los biocatalizadores son térmicamente inestables.
- Incompatibilidad con algunos disolventes orgánicos.
- Reacciones generalmente lentas y con riesgo de inhibición.
- Aislamiento tedioso y grandes volúmenes de efluentes en lotes industriales.

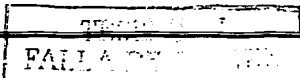
En las bioconversiones de compuestos orgánicos pueden ser utilizados cultivos en crecimiento, células en reposo, células inmovilizadas, enzimas o enzimas inmovilizadas.

En los procesos con cultivos en crecimiento, la cepa utilizada se cultiva en un medio adecuado y después del crecimiento del cultivo se añade una solución concentrada del sustrato. Este tipo de bioconversiones debe llevarse a cabo en condiciones estériles. La esterilidad es necesaria porque la contaminación puede suprimir la reacción deseada, inducir la formación de falsos productos de transformación o producir la degradación total del sustrato.

Si no es necesaria la inducción de la enzima por el sustrato que se añade, se recurre a las células en reposo. Esto tiene la considerable ventaja de que se elimina la inhibición del crecimiento por el sustrato; además, puede ser utilizada una alta proporción de células, lo que facilita el aumento de productividad y al mismo tiempo se reduce el riesgo de contaminación.

Una variante mejorada es el uso de células inmovilizadas, lo que ofrece la ventaja de que el proceso puede ser llevado a cabo continuamente y las células pueden ser utilizadas una y otra vez. Las células bacterianas inmovilizadas que catalizan reacciones de una o múltiples etapas se utilizan actualmente en la producción comercial de ácido aspártico, L-alanina y ácido málico.

Los extractos enzimáticos acelulares son empleados en aquellas reacciones de biotransformación en las cuales deben evitarse reacciones indeseadas debidas a otros sistemas enzimáticos, o cuando la velocidad de la reacción es entorpecida por el transporte del sustrato o de los productos a través de la membrana celular.





Finalmente, muchas enzimas tienen un pH y/o temperaturas óptimas diferentes a las de las células intactas.

Los productos finales de las reacciones de biotransformación son normalmente extracelulares y pueden encontrarse disueltos o en suspensión. Para el aislamiento, el material celular separado debe ser lavado repetidamente con agua o disolventes orgánicos, ya que una parte significativa del producto de reacción puede estar adsorbida en las células. Dependiendo de la solubilidad de los productos, la recuperación se lleva a cabo por precipitación, como sal cálcica, por adsorción en intercambiadores iónicos, por extracción con disolventes apropiados o, en el caso de sustancias volátiles, por destilación directa a partir del medio de cultivo.

2.5 Hipertensión y fármacos empleados en su tratamiento.

La hipertensión, o presión arterial elevada, que se define como una elevación de las presiones sanguíneas sistólica y/o diastólica por encima de 140/90 mm Hg, respectivamente, afecta a más de 60 millones de personas en los Estados Unidos de América. En México se han documentado unos ocho millones de casos, siendo la enfermedad cardiovascular más común. ^[1]

La hipertensión es uno de los factores de riesgo más significativos en el desarrollo y la progresión de las enfermedades cardiovasculares. En numerosos estudios se ha demostrado la estrecha asociación entre la hipertensión no tratada y la ocurrencia de hipertrofia ventricular e insuficiencia cardiaca congestiva, accidentes cerebrovasculares, retinopatía, aneurismas disecantes, insuficiencia renal progresiva, enfermedad coronaria, enfermedades vasculares periféricas y sus complicaciones.

Muchos de los fármacos disponibles hoy en día, son suficientemente eficaces para ser utilizados en la monoterapia inicial de la hipertensión leve y moderada (Figura 5).

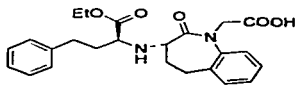


La lista de monoterapias de elección incluye a los diuréticos, los β -bloqueadores, los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), los antagonistas de los canales de calcio y algunos bloqueadores α -adrenérgicos (Tabla 1). Es costumbre basar la elección inicial del fármaco en las características clínicas de cada paciente. ^[12]

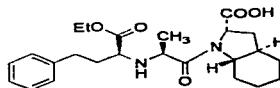
El uso simultáneo de agentes con mecanismos de acción y efectos hemodinámicos similares, en general no produce un gran beneficio adicional. En cambio, el uso concurrente de fármacos de diferentes clases es una estrategia común para lograr un control efectivo de la tensión arterial con efectos adversos aceptables. ^[4]

El captopril fue el primer inhibidor de la ECA. Mostró su efectividad tanto en el tratamiento de la hipertensión como de la falla congestiva del corazón ^[13]. Inhibe a la enzima convertidora peptidil dipeptidasa, la cual hidroliza la angiotensina I a angiotensina II e inactiva a la bradiquinina, un vasodilatador potente. Así la actividad hipotensora del captopril puede ser consecuencia de una acción inhibidora sobre el sistema renina-angiotensina y una acción estimulante sobre el sistema calicreína-cinina. ^[9]

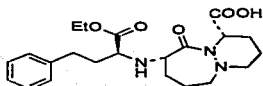
El captopril por vía oral es efectivo en las formas leves y severas de hipertensión dependiente de la renina. Debido a la ausencia de efectos colaterales en la mayoría de los pacientes, se usa a menudo como primer agente terapéutico. El efecto antihipertensivo es amplificado por el uso de un diurético y puede combinarse con otras formas de agentes antihipertensivos en una forma aditiva. Este fármaco es particularmente efectivo en la hipertensión renovascular y maligna pero es relativamente inefectivo cuando se usa solo en las formas de hipertensión con renina baja.

**Serie de fármacos antihipertensivos**

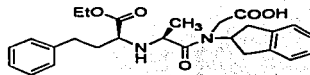
Benazepril



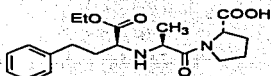
Trandolapril



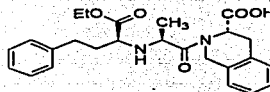
Cilazapril



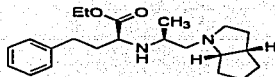
Delapril



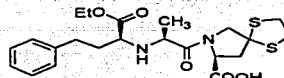
Enalapril



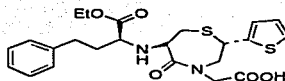
Quinalapril



Ramipril



Spirapril



Temocapril

Figura 5. Serie de fármacos antihipertensivos que presentan en su estructura el fragmento del (S)-2-amino-4-fenilbutirato de etilo.



Tabla 1. Clasificación de los agentes antihipertensivos.

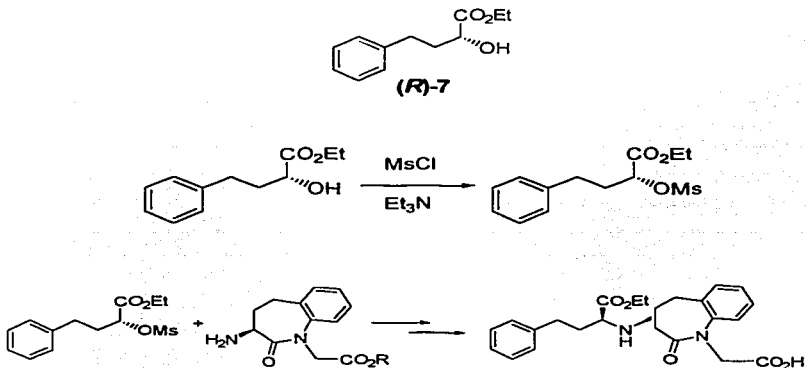
Diuréticos	<ol style="list-style-type: none">1. Tiazidas y agentes relacionados (hidroclorotiazida, clortalidona, etc.)2. Diuréticos del asa (furosemida, bumetadina, ácido etacrínico)3. Diuréticos conservadores de potasio (triamtireno, espironolactona, amilorida)
Agentes simpaticólicos	<ol style="list-style-type: none">1. Agentes de acción central (metildopa, clonidina, guanabenz, guanefacina)2. Agentes bloqueadores ganglionares (trimetafán)3. Agentes bloqueadores de neuronas adrenérgicas (guanetidina, guanadrel, reserpina)4. Antagonistas β-adrenérgicos (propranolol, metoprolol, etc.)5. Antagonistas α-adrenérgicos (prozosín, fenoxibenzamina, fentolamina)6. Antagonistas mixtos (labetalol)
Vasodilatadores	<ol style="list-style-type: none">1. Arteriales (hidralazina, minoxidil, diazóxido)2. Arteriales y venosos (nitroprusiato)
Antagonistas de los canales de calcio	Verapamilo Diltiazem Nifedipina Nicardipina Nitrendipina
Inhibidores de la ECA	Captopril, Benazepril, Delapril, Spirapril, Enalapril, Trandolapril, Quinalapril, Temocapril, Lisinopril, Cilazapril, Ramipril.



2.6 Síntesis del (R)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo.

La mayoría de los fármacos inhibidores de la ECA que se encuentran en uso actualmente como antihipertensivos contienen en su estructura un aminoéster derivado del ácido (S)-2-amino-4-fenilbutírico ((S)-3).

El proceso de obtención más comúnmente empleado para este tipo de fármacos y el más eficiente consiste en transformar el grupo hidroxilo del (R)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo ((R)-7) en un buen grupo saliente, para que, mediante un desplazamiento nucleofílico con la amina correspondiente produzca, con inversión de la configuración, el fármaco requerido (Esquema 4).



Esquema 4. Síntesis del Benazepril ^[14] a partir del (R)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo.



Debido a la gran importancia del (*R*)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo (**(*R*)-7**) como intermedio clave en la manufactura de este tipo de agentes antihipertensivos, se han desarrollado diversas metodologías para su preparación, tales como:

1. Resolución clásica del ácido 2-hidroxi-4-fenilbutírico (**(*R,S*)-6**), seguida de esterificación (Esquema 5).



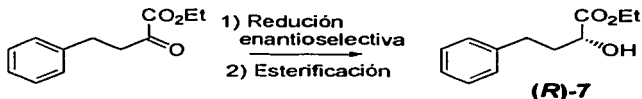
Esquema 5.

2. Reducción enantioselectiva del ácido 2-oxo-4-fenil-3-butenóico, seguida de esterificación ^[15] (Esquema 6).



Esquema 6.

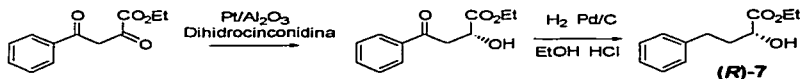
3. Reducción enantioselectiva del 2-oxo-4-fenilbutirato de etilo, (Esquema 7).



Esquema 7.

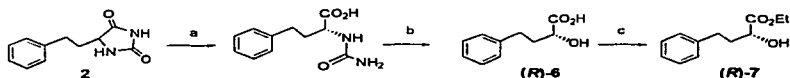


4. Hidrogenación enantioselectiva del 2,4-dioxo-4-fenilbutirato de etilo, seguida de hidrogenólisis (Esquema 8).



Esquema 8.

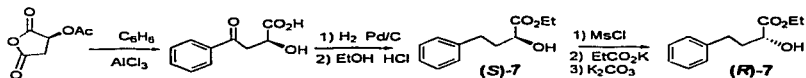
5. Hidrólisis enzimática de la 5-Feniletíl-imidazolin-2,4-diona (**2**), seguida de hidrólisis química del ácido (*R*)-2-carbamoil-4-fenilbutírico y posterior esterificación. ^[16] (Esquema 9)



a= pseudomonas putida, b= $\text{NaNO}_2 / \text{AcOH} / \text{H}_2\text{SO}_4$, c= $\text{EtOH} / \text{SOCl}_2$

Esquema 9.

6. Acilación tipo Friedel-Crafts del benceno con anhídrido (*S*)- α -acetoxisuccínico seguido de hidrogenólisis, esterificación y posterior inversión de la configuración en **2** ^[17]. (Esquema 10)



Esquema 10.



De estos métodos descritos, el que parece ofrecer mayores posibilidades de escalamiento a nivel comercial es el que involucra la acilación del benceno con el anhídrido (S)- α -acetoxisuccínico, el cual se prepara fácilmente por reacción del ácido (S)-málico, comercialmente disponible a precios bajos. Sin embargo, este proceso tiene las desventajas de producir grandes efluentes de cloruro de aluminio y de requerir una inversión de la configuración, lo que alarga en cuatro pasos la síntesis.

2.7 Amino ácidos.

Las proteínas son las moléculas más abundantes en las células. El término proteína proviene del griego *protos* que significa "primero" o "más" importante. Los amino ácidos son los constituyentes principales de las proteínas, se encuentran en todos los organismos vivos y constituyen la clase de compuestos biológicamente importantes de mayor diversidad. El ser humano sólo es capaz de sintetizar 10 de ellos. Los 10 restantes se denominan amino ácidos esenciales, puesto que deben obtenerse por hidrólisis de las proteínas que se encuentran en los alimentos de origen animal y vegetal. ^[18]

El primer amino ácido descubierto en las proteínas fue la aspargina, en 1806, y el último en descubrirse fue la treonina, que no se identificó hasta 1938.

Los amino ácidos encontrados en las proteínas tienen todos un grupo carboxilo ($-\text{COOH}$) y un grupo amino ($-\text{NH}_2$) unidos al mismo átomo de carbono; difieren unos de otros en sus cadenas laterales, las cuales varían en estructura, tamaño y carga eléctrica e influyen en la solubilidad en agua de los aminoácidos.

Los veinte amino ácidos naturales son: alanina, arginina, aspargina, ácido aspártico, cisteína, ácido glutámico, glutamina, glicina, histidina, isoleucina, leucina, lisina, metionina, fenilalanina, prolina, serina, treonina, triptófano, tirosina y valina. ^[19]



En todos los amino ácidos (excepto glicina porque su grupo R es un átomo de carbono) el carbono α es asimétrico, estando unido a cuatro grupos sustituyentes diferentes: un grupo carboxilo, un grupo amino, un grupo R y un átomo de hidrógeno. El átomo de carbono α es así un centro quiral. Todos estos amino ácidos, excepto la cisteína, poseen la configuración absoluta (S).^[20]

Casi todos los compuestos biológicos con un centro quiral se representan en la naturaleza en una sola de sus formas estereoisoméricas, L o D. Los amino ácidos de las proteínas son los L estereoisómeros. Se han encontrado D-amino ácidos solamente en péptidos pequeños de las paredes celulares bacterianas y en algunos antibióticos peptídicos.

Cuando se forman compuestos quirales en reacciones químicas ordinarias se obtiene una mezcla racémica de isómeros D y L. Mientras que las formas D y L de las moléculas quirales son difíciles de distinguir y aislar por el químico, para los sistemas vivientes son tan diferentes como la noche y el día. La capacidad de las células para sintetizar específicamente el isómero L de los amino ácidos es reflejo de una de las muchas propiedades extraordinarias de los enzimas. La estereoespecificidad de las reacciones catalizadas por enzimas es posible gracias a la asimetría de sus sitios activos.

Se han encontrado muchos amino ácidos no proteicos formando parte de metabolitos, como en el caso de los antibióticos, en algunas otras sustancias de origen microbiano, además de tener aplicaciones farmacológicas, como saborizantes y como nutrientes. En la industria de alimentos un buen número de amino ácidos han sido ampliamente usados como enriquecedores o modificadores del sabor. Por ejemplo, el glutamato monosódico es conocido como exaltador del sabor de la carne y se usa en enormes cantidades en la industria alimentaria.

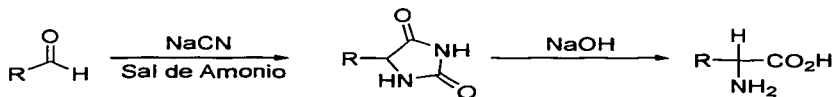


2.8 Métodos generales de obtención de amino ácidos.

Hay varias alternativas para la producción de amino ácidos: extracción, síntesis química y biotransformación.

En la extracción, los amino ácidos naturales son aislados de proteínas hidrolizadas de origen vegetal o animal. Los amino ácidos sintéticos generalmente son racémicos; en muchos casos, la producción de L-amino ácidos es posible a partir de un precursor proquiral, la así llamada síntesis asimétrica. Hasta 1950 todos los amino ácidos eran producidos por extracción o por síntesis química y resolución de las mezclas racémicas sintéticas.

2.8.1 Reacción de Bücherer-Berg. Este tipo de reacción consiste en hacer reaccionar un aldehído, RCHO, en un medio acuoso alcohólico con carbonato de amonio y cianuro de sodio. La hidantoína resultante es saponificada con hidróxido de sodio y al neutralizar, el amino ácido precipita. Los siguientes amino ácidos pueden ser preparados por este método obteniendo rendimientos de entre 65 a 80%: D,L-Valina, D,L-Leucina, D,L-Lisina y la D,L-Metionina. ^[21,22,23] (Esquema 11)



Esquema 11.

Otro de los procesos descritos es a partir de ésteres malónicos. La síntesis de este tipo puede ser efectuada por condensación con un halogenuro de alquilo o con un grupo aldehído.

2.8.2 Condensación con halogenuros de alquilo. El derivado sódico de un acilaminomalonato y un halogenuro de alquilo (RX) donde X puede ser Cl, Br o I reaccionan para formar, después de hidrólisis y descarboxilación, el amino ácido



correspondiente. Esta reacción procede por los siguientes pasos: condensación con el halogenuro de alquilo promovida por etóxido de sodio; hidrólisis alcalina y descarboxilación a pH 6. La D,L-fenilalanina puede ser preparada por este método partiendo del acetamidomalonato de dietilo y el cloruro de bencilo, con un rendimiento del 60-80%.

2.8.3 Condensación con un aldehído. La serina es preparada por condensación de una molécula de etil acetamidomalonato con una molécula de formaldehído, en presencia de un catalizador de sodio. Después de varias horas el producto de reacción es saponificado, acidificado con ácido acético, evaporado y recuperado por un exceso de ácido clorhídrico concentrado. Esterificando con etanol se separa el clorhidrato del ester etílico de la serina. Hidrolizando y pasando por una columna de intercambio iónico (Amberlite IR-4B) se obtiene en buenos rendimientos la serina cristalina.

Desde los años 60' los métodos de producción de L-amino ácidos han cambiado significativamente. Los primeros cambios importantes fueron hechos por la invención de un proceso de fermentación que utiliza las bacterias *Corynebacterium glutamicum* o *Brevibacterium fravum* para producir ácido L-glutámico. Posteriormente se desarrollaron procesos de fermentación para otros amino ácidos, muchos de los cuales, excepto glicina, L-metionina, L-cisteína y L-serina son producidos económicamente por fermentación.

2.9 Resolución de amino ácidos.

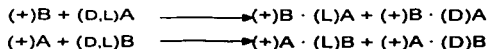
Se entiende por resolución un proceso por el cual una mezcla racémica se separa en sus dos enantiómeros puros. Por ejemplo, un ácido carboxílico racémico puede convertirse en una mezcla diastereomérica de sales por reacción con una base de amina quiral, y separarse así por cristalización fraccionada. La regeneración de los ácidos libres produce los dos ácidos enantioméricos puros. ^[18]



En muchos casos, solamente la mezcla racémica de α -amino ácidos puede ser obtenida por medio de síntesis química. Por tanto, la resolución es indispensable para obtener las formas L o D ópticamente activas en la producción de amino ácidos costosos. La resolución de amino ácidos puede ser realizada de dos maneras generales: métodos físicos o químicos, donde se aplican las propiedades estereoespecíficas de los amino ácidos y los métodos biológicos o enzimáticos que se basan en el comportamiento que tienen los amino ácidos en presencia de células vivas y de enzimas.

2.9.1 Por cristalización preferencial. Este método puede ser viable sólo cuando el compuesto racémico tiende a formar cristales enantioméricos. El método de cristalización preferencial consiste en inocular una solución saturada de la mezcla racémica con cristales del enantiómero deseado. Resoluciones por este método han sido reportadas para la histidina, ácido glutámico, DOPA, treonina, N-acetilfenilalanina y otros. En el caso del ácido glutámico, el método ha sido empleado para manufactura industrial. ^[24]

2.9.2 Formación de sales diastereoisoméricas. La formación de sales de bases ópticamente activas con ácidos racémicos o de ácidos ópticamente activos con bases racémicas conduce a mezclas diastereoméricas que pueden ser resueltas por la diferente solubilidad de los componentes de cada mezcla.



Las sales pueden ser descompuestas por una reacción ácido-base involucrando una base más fuerte que (+)B o un ácido más fuerte que (+)A.

Este procedimiento está restringido principalmente para ácidos aminodicarboxílicos o ácidos diaminocarboxílicos. En el caso de amino ácidos neutros, el grupo amino o el



grupo carboxilo debe ser protegido, por ejemplo, por *N*-acilación, esterificación o amidación. La protección del amino ácido racémico y la desprotección de los enantiómeros separados suman pasos al proceso global, además de que usualmente es necesario recuperar el agente resolutor.

2.9.3 Resolución enzimática. Es una alternativa de resolución que se ubica dentro de las biotransformaciones. Los L-amino ácidos pueden ser producidos por la hidrólisis enzimática de D,L-amino ácidos sintetizados químicamente o de derivados tales como ésteres, hidantoínas, carbamatos o amidas. La enzima que hidroliza específicamente al L-isómero puede ser de origen microbiano o aislada de órganos de mamíferos superiores. El L-amino ácido resultante es aislado rutinariamente por medio de procesos químicos o físicos. El D-isómero que permanece inalterado es racemizado química o enzimáticamente y es reciclado en el proceso. También se han encontrado algunas enzimas que actúan específicamente sobre los isómeros D.

En otros procedimientos, las D-amino ácido oxidasas son útiles para producir L-amino ácidos de D,L-amino ácidos. Los ácidos α -cetocarboxílicos, que son producidos por la acción de enzimas sobre D-amino ácidos, son aminados para formar L-amino ácidos, por catálisis con aminotransferasas.

2.9.4 Métodos cromatográficos. El progreso en el desarrollo de técnicas de resolución cromatográfica para aminoácidos, especialmente la cromatografía líquida de alta resolución, es notable. Hoy en día, las separaciones quirales son principalmente realizadas por tres métodos: columnas quirales, columnas aquirales con fases móviles quirales y derivatización con reactivos ópticamente activos y posterior separación en columnas aquirales. Los tres métodos son útiles, pero ninguno tiene una aplicación universal y se limitan a escala analítica.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



3. Planteamiento del problema.

El problema de fondo en relación con la dependencia tecnológica de la industria farmacéutica nacional está frecuentemente en la disponibilidad de materias primas para la síntesis de fármacos. Importamos toda clase de productos químicos intermedios, de los cuales muchos de ellos podrían ser producidos en México, si se desarrolla la tecnología adecuada; por tanto, la industria depende de proveedores internacionales de dichos intermedios que fijan los precios y condicionan sus ventas.

La mayoría de los fármacos antihipertensivos inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (ECA), presentan en su estructura un fragmento de (S)-2-amino-4-fenilbutirato de etilo, el cual puede ser introducido eficientemente por reacción entre una amina quiral apropiada y el tosilato o nosilato del (R)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo ((R)-7), produciendo el fármaco de interés mediante la inversión de la configuración original del hidroxí éster.

Con este trabajo se pretende contribuir al desarrollo de una tecnología original y competitiva para la síntesis del (R)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo, el cual, a pesar de ser un intermedio común en la síntesis de la mayoría de los fármacos inhibidores de la ECA, no se encuentra disponible comercialmente, debido probablemente a que las empresas prefieren comercializar intermedios más avanzados o productos finales.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



4. Objetivos.

- Desarrollar un proceso eficiente de obtención del ácido (*R,S*)-2-acetamido-4-fenilbutírico (**4**).
- Evaluar alternativas químicas y enzimáticas para la resolución del ácido (*R,S*)-2-acetamido-4-fenilbutírico.
- Transformar el ácido (*R*)-2-amino-4-fenilbutírico (**(R)-3**) en (*R*)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo (**(R)-7**).
- Evaluar estrategias alternativas para el aprovechamiento del ácido (*S*)-2-amino-4-fenilbutírico (**(S)-3**) en la síntesis del (*R*)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo.
- Optimizar, en escala de laboratorio, los pasos sintéticos que hayan presentado mejores resultados, para su posible implementación en la industria.

TESIS CON
FIRMA DE ORIGEN



5. Hipótesis de trabajo.

Es posible desarrollar un proceso eficiente de síntesis y resolución del ácido (*R,S*)-2-amino-4-fenilbutírico (**3**) y transformar el enantiómero (*R*) en el (*R*)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo (**(R)-7**), precursor útil en la obtención de diversos fármacos antihipertensivos, incorporando el enantiómero no deseado vía racemización.

TRABAJO CON
FALLA DE ORIGEN



6. Material y método.

Sustancias.

Amoniaco gas.
Ácido acético GT.
Ácido clorhídrico, GT.
Ácido Sulfúrico, GT.
Anhídrido acético, GT.
Carbón activado, PWA.
Celita.
Clanuro de sodio GT.
Cloruro de tionilo, GR.
Dióxido de carbono gas.
3-Fenilpropionaldehído, GR.
(S)-(-)-Metilbencilamina, GT.
Hidróxido de sodio, GT.
Hidróxido de potasio, GT.
Ninhidrina, GR.
Nitrito de Sodio, GR.
Sílica Gel 60 GF₂₅₄.

Disolventes grado técnico*.

Acetato de etilo.
Acetona.
Etanol.
Hexano.
Isopropanol.

* Los disolventes fueron purificados mediante destilación fraccionada.



Metanol.

Tolueno.

Cristalería y metal.

Agitadores magnéticos.

Anillos de metal de diversos diámetros.

Capilares de vidrio.

Embudos Büchner de porcelana.

Embudos Hirsch de porcelana.

Embudos de adición de diferentes capacidades.

Embudos de separación 125 y 250 mL.

Embudos de vidrio tallo corto y largo.

Frascos viales de 10 mL

Matraces balón de diferentes capacidades.

Matraces Erlenmeyer de 5, 25, 100, 150 y 250 mL.

Pinzas de tres dedos con nuez.

Pipetas graduadas de 0.1, 1.0, 5.0 y 10.0 mL.

Pipetas Pasteur.

Probetas de 25, 100, 150, 200 y 500 mL.

Reactor de acero inoxidable 200, 1000 y 2000 mL.

Refrigerantes 24/40, 19/22, rectos, y de serpentín.

Termómetro de alcohol de -10 a 50°C y Termómetro de -10 a 150°C.

Trampas para humedad.

Vasos de precipitados de 15, 25, 100, 150, 600 y 1000 mL.

Soportes universales.

Equipo.

Agitador mecánico Cole-Palmer Mod. Stir-Pak 4454-10.

Aparato Fisher Johns IL 684.



Balanza analítica Sartorius 2462.
Balanza semianalítica Mettler PB300.
Bomba de alto vacío.
Canastilla de calentamiento.
Espectrómetro JEOL ECLIPSE-400 a 400 MHz.
Estufa.
Lámpara de UV 254/366 nm.
Manómetro.
Placas de calentamiento y agitación.
Polarímetro Perkin Elmer 341.
Potenciómetro Metrohm pH Meter 691.
Recirculador de agua Lauda K2RD.
Refractómetro Atago.
Reóstatos.
Rotavapor Buchi 461.

Método.

a) Metodología

- Se llevó a cabo una revisión bibliográfica de los métodos de síntesis del ácido (*R,S*)-2-amino-4-fenilbutírico (**3**) en el Chemical Abstracts, así como recopilación de publicaciones que respaldaran el trabajo experimental.
- Se evaluaron experimentalmente las rutas descritas para la síntesis de la 5-feniletíl-imidazolín-2,4-diona (**2**) y su hidrólisis para la obtención del ácido (*R,S*)-2-amino-4-fenilbutírico (**3**).

TRABAJO CON
FALLA DE ORIGEN



- Se llevó a cabo la preparación del ácido (*R,S*)-2-acetamido-4-fenilbutírico (**4**), a partir de (**3**) por reacción con anhídrido acético.
- Se evaluaron los métodos de resolución (químicos y enzimáticos) reportados en la literatura para el ácido (*R,S*)-2-acetamido-4-fenilbutírico (**4**), y se buscó la desprotección en condiciones que no promovieran la racemización.
- Se reprodujeron las condiciones descritas en la literatura para síntesis del ácido (*R*)-2-hidroxi-4-fenilbutírico a partir del ácido (*R*)-2-amino-4-fenilbutírico (**(R)-3**).
- Se optimizaron los métodos que dieron resultados más convenientes, para incrementar la eficiencia del proceso.
- Se caracterizaron los compuestos obtenidos por resonancia magnética nuclear de ^1H y ^{13}C , así como espectrofotometría de infrarrojo y polarimetría.

b) Técnicas experimentales.

El material usado para las reacciones que requirieron condiciones anhidras se secó en una estufa a 100°C, durante 12 h previo a su uso.

Los puntos de fusión se determinaron en un aparato Fisher Johns IL 684, en cubreobjetos y no están corregidos.

Los índices de refracción se determinaron en un equipo Atago.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



El curso de las reacciones se siguió por CCF, empleando como fase estacionaria sílica gel y como reveladores radiación ultravioleta, ninhidrina al 2% y vapores de yodo.

Los espectros de RMN de ^1H y ^{13}C , fueron obtenidos en los espectrómetros JEOL Eclipse+400 a 400 MHz y Bruker Avance DPX-300 a 300 MHz en el Departamento de Química del CINVESTAV-IPN. Se utilizaron CDCl_3 , $\text{DMSO}-d_6$ y D_2O como disolventes y TMS como referencia interna. Los desplazamientos químicos se reportan en ppm a partir del TMS. Para indicar la multiplicidad de las señales en RMN ^1H , se utilizan las abreviaturas: (s) simple, (d) doble, (t) triple, (c) cuarteto, (q) quintuple y (m) múltiple. Las señales complejas se indican utilizando dos o más de estas abreviaturas.

Las rotaciones ópticas se determinaron en un polarímetro Perkin-Elmer Modelo 341, utilizando una celda de 1 dm de longitud. Para la medición se utilizó la línea D del sodio (589 nm), a la temperatura del compartimiento de muestra del aparato (20°C). Las rotaciones específicas se informan junto con el disolvente empleado en la determinación, así como la concentración de muestra en g/100 mL.

Los espectros de IR fueron obtenidos en un equipo Perkin Elmer 1600 serie FTIR en bromuro de potasio (KBr) y nujol.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



7. Parte experimental.

5-Feniletíl-imidazolin-2,4-diona (2). En un matraz de 1L de una boca provisto con refrigerante para reflujo y agitación magnética, se adicionaron 305 mL de agua, 27.80g (0.567 mol) de cianuro de sodio, 77.7 g (0.871 mol) de carbonato de amonio, 76.14g (0.567 mol) de 3-fenilpropionaldehído (1) y 76 mL de MeOH. La mezcla de reacción se calentó a reflujo durante 8 horas siguiendo el curso de la reacción por CCF, sistema hexano-acetato de etilo (70:30), hasta la completa desaparición de (1). Se concentró a presión reducida recolectando 110 mL de destilado. Se enfrió a 25° C y se ajustó el pH a 4.00 con HCl conc., precipitó un sólido cristalino de color amarillo claro que se filtró al vacío y se lavó con agua, se secó a 50° C con vacío hasta peso constante, se obtuvieron 81.73g (70.95%) de 5-feniletíl-imidazolin-2,4-diona (2), p.f. 159-161°C [lit. ¹¹⁶ p.f. 163-165°C].

Espectro 1. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ: 1.89-2.12 (ddt, J = 8.14, 14, 35 Hz, 2H), 2.73 (t, J = 7.9 Hz, 2H), 3.32 (s, 1H), 4.10 (dd, J = 4.68, 7.21 Hz, 1H), 7.16-7.32 (m, 5H).

Espectro 2. RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ: 30.87, 33.80, 58.20, 126.24, 128.48, 128.56, 141.02, 158.97, 177.09.

Espectro 3. IR ν_{max} (KBr), (cm⁻¹) 3287, 3168, 3027, 2939, 1778, 1716, 1420, 1323, 1195, 785, 644.

Ácido (R,S)-2-amino-4-fenilbutírico (3). En un reactor de acero inoxidable de 1L, se cargaron 81.73g (0.402 mol) de 5-feniletíl-imidazolin-2,4-diona (2), 400 mL de agua y 48.31g (1.207 mol) de NaOH, se calentó a 130-132°C durante 4h. Se verificó la terminación de la reacción por CCF, sistema butanol-ácido acético-agua (60:20:20). Se transfirió la mezcla de reacción a un matraz redondo de 2L, se adicionó 1g de carbón activado se calentó a ebullición durante 5 minutos y se filtró



sobre celita, se lavó con agua. Se ajustó el pH a 6.31 con HCl conc., Se enfrió entre 0 y 5°C durante 1 hora, se filtró y se lavó con agua, se secó a 60° C con vacío hasta peso constante. Se obtuvieron 53.63g (74.33%) del ácido (*R,S*)-2-amino-4-fenilbutírico (**3**), p.f. 279-280°C [lit. ^[25] p.f. 180-182°C].

Espectro 4. RMN ¹H (D₂O, 300 MHz) δ: 1.93-2.15 (m, 2H), 2.59.(m, 2H), 3.89 (t, J = 6.34 Hz, 1H), 7.11-7.19 (m, 5H).

Espectro 5. RMN ¹³C (D₂O, 75 MHz) δ: 30.58, 31.72, 52.57, 126.90, 128.75, 129.08, 140.26, 171.99.

Espectro 6. IR ν_{max} (Nujol), (cm⁻¹) 1578, 1518, 1455, 1407, 742, 694, 491.

Ácido (*R,S*)-2-acetamido-4-fenilbutírico (4**).** En un matraz de tres bocas de 3L provisto de agitación mecánica, se adicionaron 125.03g (0.697 mol) de ácido (*R,S*)-2-amino-4-fenilbutírico (**3**), 1.15L de agua y 27.9g (0.697 mol) de NaOH. La mezcla de reacción se enfrió a 0-10°C y se adicionaron 92.58g (0.906 mol) de anhídrido acético manteniendo el pH entre 11-13 con NaOH al 50% manteniendo la temperatura por debajo de 10° C. Se mantuvo a la misma temperatura durante 1h, monitoreando la reacción por CCF, sistema acetato de etilo-ácido acético (99.5:0.5), hasta completa desaparición de (**3**). El pH de la reacción se ajustó a 2 con HCl conc., se enfrió a 0-5° C durante 1 hora, se filtró y se lavó con la mínima cantidad de agua para obtener 138.01g (89.51%) del ácido (*R,S*)-2-acetamido-4-fenilbutírico (**4**), p.f. 145-147°C [lit. ^[26] p.f. 148-150°C].

Espectro 7. RMN ¹H (DMSO-*d*₆, 300 MHz) δ: 1.91-2.20 (m, 2H), 2.02 (s, 3H), 2.73 (m, 2H), 4.35 (dd, J = 4.69, 9.19 Hz, 1H), 7.15-7.31 (m, 5H).

Espectro 8. RMN ¹³C (DMSO-*d*₆, 75 MHz) δ: 21.33, 32.11, 33.50, 52.29, 126.14, 128.49, 128.49, 141.23, 172.44, 174.46.

Espectro 9. IR ν_{max} (KBr), (cm⁻¹) 3336, 1911, 1696, 1612, 1551, 1230, 1122, 974, 698.



Ácido (R)-2-acetamido-4-fenilbutírico ((R)-4). En un matraz de tres bocas de 3L provisto de agitación mecánica, se disolvieron 135g (0.610 mol) de ácido (R,S)-2-acetamido-4-fenilbutírico (**4**) en 1.235L de metanol. Se agregaron 51.75g (0.427 mol) de (S)-(-)-metilbencilamina ((S)-8), se calentó a reflujo durante 15 minutos, se enfrió a temperatura ambiente y a 0-5°C durante 1h. Se obtuvo la sal diastereomérica ((R,S)-5) como un sólido con un peso de 60.37g, $[\alpha]_D^{20} -34.40^\circ$ (c=1, MeOH). Ésta sal fue suspendida en 300 mL de agua y se ajustó el pH a 1.64 con HCl conc., se enfrió a 0-5° C durante 1 hora, se filtró y se lavó con la mínima cantidad de agua, se secó hasta peso constante a 40°C con vacío. Se obtuvieron 39.65g (58.74%) de ácido (R)-2-acetamido-4-fenilbutírico ((R)-4), p.f. 176-178°C, $[\alpha]_D^{20} -17.73^\circ$ (c=1, MeOH).

Ácido (R)-2-amino-4-fenilbutírico ((R)-3). En un matraz redondo de 2L, se cargaron 39.65g (0.179 mol) de ácido (R)-2-acetamido-4-fenilbutírico ((R)-4) y 995.60 mL de HCl 1N. Se calentó a reflujo durante 3h, monitoreando la reacción por CCF sistema acetato de etilo-ácido acético (99.5:0.5), hasta completa desaparición de ((R)-4). Se ajustó el pH entre 6.2 y 6.4 con NaOH al 50%; se enfrió a 0-5°C durante 1 hora y se filtró, se lavó con la mínima cantidad de agua y se secó hasta peso constante a 40°C con vacío. Se obtuvieron 24.88g (77.38%) del ácido (R)-2-amino-4-fenilbutírico ((R)-3), p.f. >300°C, $[\alpha]_D^{20} -42.42^\circ$ (c=1, HCl 3N).

Ácido (R)-2-hidroxi-4-fenilbutírico ((R)-6). En un matraz de tres bocas de 2L provisto de agitación mecánica, se agregaron 24g (0.133 mol) de ácido (R)-2-amino-4-fenilbutírico ((R)-3) y 268.15 mL de H₂SO₄ 3N, se enfrió a 0-4°C. Se agregó gota a gota una solución de NaNO₂ (12.84g, (0.186 mol) en 200 mL de agua) durante 30 minutos. Se dejó a temperatura ambiente durante 24h con agitación constante monitoreando el avance de reacción por CCF, sistema hexano-acetato de etilo (50:50). Se enfrió nuevamente a 0° C y se agregaron 134.07 mL de H₂SO₄ 3N y una



solución de NaNO_2 (25.69g, (0.372 mol) en 200 mL de agua) durante 30 minutos. Se retiró el baño de enfriamiento y se mantuvo a temperatura ambiente durante 48h con agitación constante, monitoreando el avance de reacción por CCF sistema hexano-acetato de etilo (50:50), hasta completa desaparición de **((R)-3)**. Se enfrió a 0-5°C durante 1h, se filtró y se lavó con la mínima cantidad de agua fría. Se secó hasta peso constante con vacío a 40°C obteniendo una primera cosecha de 8.64g de ácido (R)-2-hidroxi-4-fenilbutírico **((R)-6)**, p.f. 99-101°C, $[\alpha]_D^{20}$ -17.21° (c=0.9, CHCl_3). Las aguas madres resultantes de la filtración, se extrajeron con acetato de etilo (3X50 mL) secando con sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) y evaporando a sequedad; para producir una segunda cosecha que se repulpó en la mínima cantidad de hexano, se enfrió a 0-5°C durante 1h Se filtró y se secó a 40°C con vacío. Se obtuvieron 4.61g de ácido (R)-2-hidroxi-4-fenilbutírico **((R)-6)**, p.f. 98-100°C, $[\alpha]_D^{20}$ -17.10° (c=0.9, CHCl_3) [lit. ^{116,271} p.f. 103-108°C].

Espectro 10. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1.99-2.21 (m, 2H), 2.81 (t, J = 8.08 Hz, 2H), 4.27 (dd, J = 4.04, 8.08 Hz, 1H), 7.20-7.29 (m, 5H).

Espectro 11. RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100.5 MHz) δ : 31.00, 35.66, 69.49, 126.18, 128.49, 128.56, 140.71, 179.73.

Espectro 12. IR ν_{max} (Nujol), (cm^{-1}) 3455, 1728, 1454, 1239, 1175, 1095, 867, 737, 695.

(R)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo ((R)-7). En un matraz de tres bocas de 250 mL con trampa de humedad, se cargaron 6g (0.0333 mol) de ácido (R)-2-hidroxi-4-fenilbutírico **((R)-6)** y 60 mL de etanol anhidro. Se enfrió a 0-5°C y se adicionó lentamente 4.75g (0.0399 mol) de cloruro de tionilo manteniendo la temperatura por debajo de 5°C, manteniendo a esta temperatura durante 1 hora y a temperatura ambiente durante 24h, monitoreando la reacción por CCF, sistema hexano-acetato de etilo (50:50), hasta completa desaparición de **((R)-6)**. Se concentró hasta sequedad con vacío, el residuo se disolvió en 60 mL de acetato de etilo y se lavó



con solución saturada de bicarbonato de sodio (3X20 mL). El extracto fue secado con sulfato de sodio anhidro (Na_2SO_4) y concentrado hasta sequedad para producir 6.01g (82.72%) de (*R*)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo ((*R*)-7) como un líquido, $[\alpha]_D^{20}$ -22.25° ($c=1$, CHCl_3). ^(16, 27)

Espectro 13. RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) δ : 1.29 (t, $J = 7.32$ Hz, 3H), 1.95-2.14 (m, 2H), 2.77 (m, 2H), 2.93 (s, 1H), 4.19 (t, $J = 3.68$ Hz, 1H), 4.22 (m, 2H), 7.18-7.32 (m, 5H).

Espectro 14. RMN ^{13}C (CDCl_3 , 100.5 MHz) δ : 14.22, 31.06, 36.02, 61.75, 69.71, 126.05, 128.45, 128.60, 141.22, 175.25.

Espectro 15. IR ν_{max} (Película), (cm^{-1}) 3476, 3062, 3026, 1733, 1647, 1370, 1211, 1100, 701.

Racemización del Ácido (*S*)-2-acetamido-4-fenilbutírico ((*S*)-4).

En un matraz redondo de 100 mL, se cargaron 10g (0.0452 mol) del ácido (*S*)-2-acetamido-4-fenilbutírico ((*S*)-4) y 20 mL de ácido acético. Se calentó a reflujo durante 96 h, monitoreando la reacción por polarimetría (rotación específica), hasta completa racemización de ((*S*)-4). La reacción se enfrió a 0-5°C durante 1 hora y se filtró, se lavó con la mínima cantidad de ácido acético frío y se secó hasta peso constante a 40°C con vacío. Se obtuvieron 5.32g (53.2%) del ácido (*R,S*)-2-acetamido-4-fenilbutírico (4), p.f. 145-147°C, $[\alpha]_D^{20} +0.052^\circ$ ($c=1$, MeOH).

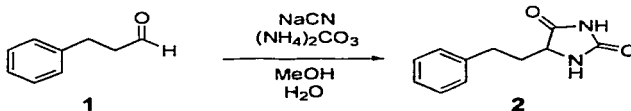
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



8. Resultados y discusión.

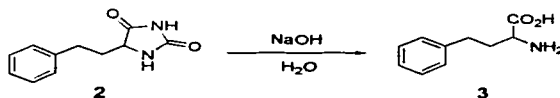
El primer paso de la metodología desarrollada, consistió en reproducir el método descrito por Bücherer-Bergs para la síntesis de hidantoínas, el cual consiste en hacer reaccionar un aldehído en presencia de carbonato de amonio y cianuro de sodio en medio acuoso alcohólico para producir la hidantoína correspondiente.

De esta manera, se logró obtener satisfactoriamente la 5-feniletíl-imidazolin-2,4-diona (2) a partir del 3-fenilpropionaldehído (1) por reacción con carbonato de amonio y cianuro de sodio en medio acuoso alcohólico con rendimientos de 70 a 80%. El rendimiento reportado en la literatura es de 45%. [16] (Esquema 12)



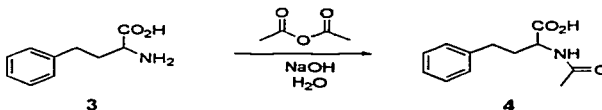
Esquema 12. Síntesis de la 5-feniletíl-imidazolin-2,4-diona (2).

La siguiente etapa consistió en hidrolizar la hidantoína (2), para lo cual se modificaron las condiciones descritas por Izumi Y.^[32] empleando tres equivalentes de hidróxido de sodio, con lo que se obtuvo el aminoácido correspondiente, ácido (*R,S*)-2-amino-4-fenilbutírico (3), con un rendimiento del 74% (Esquema 13). Cuando se intentó esta reacción con dos equivalentes de hidróxido de sodio, como se describe en la literatura, se observó una reacción incompleta.



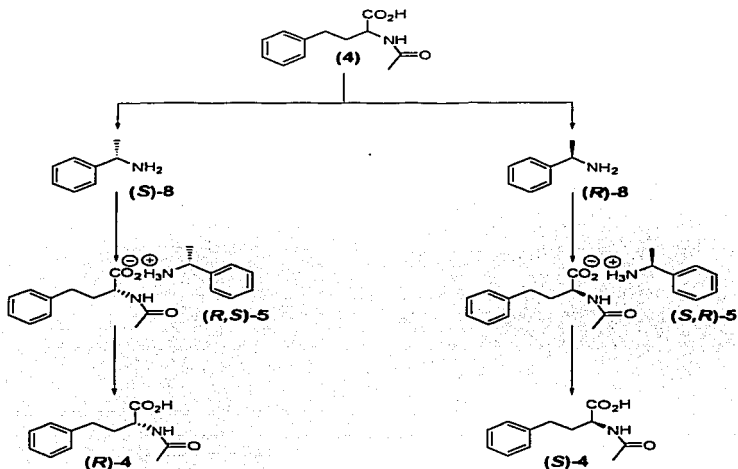
Esquema 13. Hidrólisis de la hidantoína para obtener el amino ácido correspondiente.

Posteriormente, se procedió a proteger el grupo amino acetilando bajo condiciones de pH controlado, obteniendo el ácido (*R,S*)-2-acetamido-4-fenilbutírico (4) con un rendimiento del 89.5%. (Esquema 14)



Esquema 14. Acetilación del ácido (*R,S*)-2-amino-4-fenilbutírico (3).

Se intentó la resolución química del ácido 2-acetamido-4-fenilbutírico (4) con diferentes aminas sintéticas, como son (*S*)-2-amino-1-butanol, *N*-octilglucamina y (*S*)-(-)-metilbencilamina ((*S*)-**8**), empleando diferentes disolventes y condiciones de reacción. Sin embargo, sólo con este último agente resolutor se lograron resultados satisfactorios, por lo que se realizaron varios experimentos para optimizar dicha resolución, probando diferentes proporciones del agente resolutor, disolventes y mezclas de disolventes, así como temperaturas de cristalización. Esta resolución está reportada en una patente japonesa^[29] empleando 1.3 equivalentes de (*S*)-(-)-metilbencilamina, con rendimiento del 36 % para el ácido (*S*)-2-acetamido-4-fenilbutírico. (Esquema 15)



Esquema 15. Resolución del ácido (R,S)-2-acetamido-4-fenilbutírico (4), empleando (S)-(-)-metilbencilamina ((S)-8).

Los rendimientos de la sal diastereomérica ((R,S)-5), con el método optimizado, fueron de 55 a 65%, con rotaciones específicas de $[\alpha]_D^{20}$ -34° hasta -38° (c=1, MeOH) [lit. ^[29] 38%]

Con respecto a la resolución del ácido (R,S)-2-acetamido-4-fenilbutírico, se usó como punto de partida el método reportado por Miyazawa Yoshinobu, que consiste realmente en una doble resolución, empleando como primer agente resolutor 1.3 equivalentes de (R)-(+)-Metilbencilamina [(R)-FEA], con lo cual aislan la sal (S,R)



con un rendimiento del 38% y luego hacen otra resolución del producto recuperado de las aguas madres [(enriquecido con sal (R,S)], previa liberación con ácido clorhídrico diluido, empleando esta vez [(S)-FEA] como agente resolutor, para obtener la sal (R,S).

Considerando que: a) para nuestros objetivos fue prioritaria la obtención del ácido (R)-2-acetamido-4-fenilbutírico; b) está reportado ^[31] que en ciertos casos cuando una de las sales diastereoméricas es mucho menos soluble en el medio es posible realizar una resolución empleando 0.5 y 0.7 equivalentes del agente resolutor, se rediseñó la estrategia de la "doble resolución" descrita por Miyazawa Yoshinobu con los siguientes cambios:

- a) Realizar la primera fase de la resolución con [(S)-FEA];
- b) Intentar el empleo de 0.5 y 0.7 equivalentes de los agentes resolutores;
- c) Debido a que los rendimientos de las sales fueron bajos, se probaron varios disolventes y mezclas de disolventes.

Se realizaron además varios experimentos en los que se ensayaron diferentes velocidades de adición del agente resolutor y diferentes tiempos de calentamiento, encontrando que la velocidad de adición no afecta el rendimiento ni la rotación específica de la sal, a diferencia de lo que sucede con el tiempo de calentamiento y con el disolvente.

Este es, pues, un método poco explotado y poco descrito en la literatura, que hace más eficiente a una resolución y que puede aplicarse en los siguientes casos: a) cuando se dispone de ambos enantiómeros del agente resolutor y b) cuando hay una diferencia importante en la solubilidad en caliente de cada uno de los productos diastereoméricos en el medio de reacción. Hay que mencionar que, en este caso, las sales (R,S) y (S,R) tienen una relación enantiomérica entre sí.



Posteriormente, la *N*-acetil fue liberada desde la sal diastereomérica (*R,S*) con ácido clorhídrico acuoso.

La hidrólisis del *N*-acetil se realizó en condiciones que no promovieran la racemización, para lo cual se empleó ácido clorhídrico 1*N* con calentamiento a reflujo, obteniendo el ácido (*R*)-2-amino-4-fenilbutírico con un rendimiento del 77.38% y una pureza óptica de 90%.

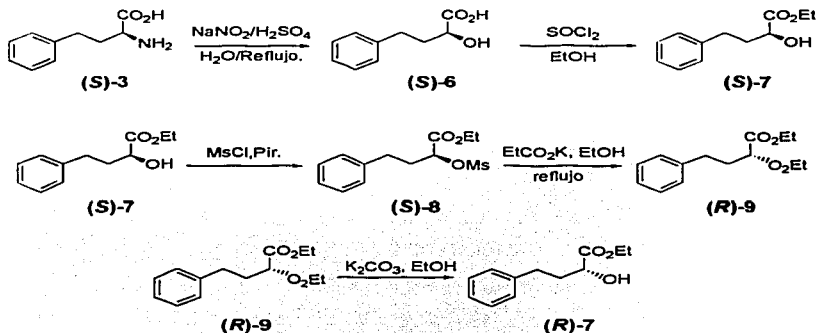
Un procedimiento similar se empleó para obtener el diastereómero (*S,R*) a partir de las aguas madres de la primera resolución, obteniéndose finalmente el ácido (*S*)-2-amino-4-fenilbutírico con rendimiento y pureza óptica similares al enantiómero (*R*).

Otro proceso que se exploró fue la resolución del ácido (*R,S*)-2-amino-4-fenilbutírico con ácido *D*-mandélico, reportado en una patente japonesa [30], sin resultados favorables.

Otra prueba que se realizó fue la resolución enzimática del ácido (*R,S*)-2-acetamido-4-fenilbutírico, empleando una *N*-acilasa cruda de riñón de puerco, siguiendo la metodología sugerida por el Dr. Héctor Luna Contla. Con esta alternativa se obtiene el enantiómero (*S*) con una pureza óptica del 91%, y un rendimiento estequiométrico del 66%. El enantiómero (*R*) permanece inalterado, aunque resultó difícil de aislar y purificar, por lo que esta estrategia fue abandonada.

Como una alternativa para el aprovechamiento del ácido (*S*)-2-amino-4-fenilbutírico, que es el subproducto de la resolución, se plantea su racemización y reciclo, o bien, un procedimiento que implica su transformación en el (*S*)-hidroxiéster y su posterior inversión de configuración, como la describe Wen-Qing [17]. (Esquema 16)

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

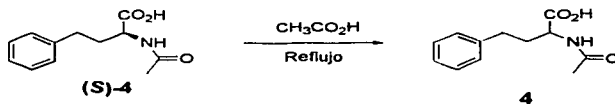


Esquema 16. Ruta de síntesis alternativa para el aprovechamiento del ácido (S)-2-amino-4-fenilbutírico ((S)-3).

Para la preparación del hidroxiaácido y el hidroxieéster respectivamente, se reprodujeron las metodologías descritas por Iwasaki G. y col. ^[16], obteniendo resultados similares a los descritos en dicho trabajo. Para el hidroxiaácido se obtuvo un rendimiento del 62% y para el hidroxieéster el 82%.

La racemización del ácido (S)-2-acetamido-4-fenilbutírico fue realizada a reflujo en ácido acético durante 96 horas obteniendo el ácido (R,S)-2-acetamido-4-fenilbutírico con un rendimiento del 53.2% y una rotación de $[\alpha]_D^{20} +0.052^\circ$ (c=1, MeOH), el cual puede ser empleado para un reciclo. Esta estrategia fue preferida a la que implica la hidrólisis alcalina y racemización en solución alcalina, puesto que tiene la ventaja de no requerir una nueva acetilación. (Esquema 17)

ANÁLISIS CON
DE ORIGEN



Esquema 17. Racemización de (S)-4 para su posterior reincorporación en un reciclo.

Un punto importante del proyecto fue desarrollar una tecnología competitiva para la síntesis del (R)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo, por lo cual se presenta, en las siguientes Tablas, la relación de insumos para la preparación de 1Kg de producto final. Los cálculos se basaron en los requerimientos de cada etapa de la síntesis desarrollada, considerando la recuperación y reuso de algunos materiales.



Tabla 2. Insumos para la síntesis de 1 Kg de (R)-2-Hidroxi-4-fenilbutirato de etilo por etapas.

Síntesis de 5-feniletíl-imidazolin-2,4-diona					
Materia prima	Gramos	Mililitros	Recuperado	Consumo	Factor
3-fenilpropionaldehído	76,14			76,14	3,93
Cianuro de sodio	27,8			27,8	1,44
Carbonato de amonio	77,7			77,7	4,02
Agua		305		305	15,78
Metanol		76	70	6	0,31
Ácido clorhídrico conc.		76		76	3,93
5-feniletíl-imidazolin-2,4-diona	81,73	R%= 70,95			0,0517
Síntesis del Ácido (R,S)-2-amino-4-fenilbutírico					
Materia prima	Gramos	Mililitros	Recuperado	Consumo	Factor
5-feniletíl-imidazolin-2,4-diona	81,73			81,73	4,22
Hidróxido de sodio	48,31			48,31	2,50
Agua		400		400	20,67
Ácido clorhídrico conc.		90		90	4,65
Carbón activado	1			1	0,05
Ácido (R,S)-2-amino-4-fenilbutírico	53,63	R%= 74,33			0,0517
Síntesis del Ácido (R,S)-2-acetamido-4-fenilbutírico					
Materia Prima	Gramos	Mililitros	Recuperado	Consumo	Factor
Ácido (R,S)-2-amino-4-fenilbutírico	125,03			125,03	2,77
Anhidrido acético	92,58			92,58	2,05
Hidróxido de sodio	27,9			27,9	0,62
Agua		1150		1150	25,49
Ácido clorhídrico conc.		150		150	3,32
Hidróxido de sodio 50%		55		55	1,22
Ácido (R,S)-2-acetamido-4-fenilbutírico	138,01	R%= 89,51			0,02217



Continuación Tabla 2.

Síntesis del Ácido (R)-2-acetamido-4-fenilbutírico					
Materia Prima	Gramos	Millilitros	Recuperado	Consumo	Factor
Ácido (R,S)-2-acetamido-4-fenilbutírico	135		92,91	42,09	3,06
Metanol		1235	1200	35	2,54
(S)-(-)-Metilbenzildamina	51,75		51	0,75	0,05
Sal diastereomérica	60,37			60,37	4,39
Agua		300		300	21,80
Ácido clorhídrico conc.		15		15	1,09
Ácido acético		190,7	190	0,7	0,05
Ácido (R)-2-acetamido-4-fenilbutírico	39,65	R%= 58,74			0,07268
Síntesis del Ácido (R)-2-amino-4-fenilbutírico					
Materia Prima	Gramos	Millilitros	Recuperado	Consumo	Factor
Ácido (R)-2-acetamido-4-fenilbutírico	39,65			39,65	2,88
Ácido clorhídrico 1N		995,6		995,6	72,36
Hidróxido de sodio 50%		64		64	4,65
Ácido (R)-2-amino-4-fenilbutírico	24,88	R%= 77,88			0,07268
Síntesis del Ácido (R)-2-hidroxi-4-fenilbutírico					
Materia prima	Gramos	Millilitros	Recuperado	Consumo	Factor
Ácido (R)-2-amino-4-fenilbutírico	24			24	1,81
Ácido sulfúrico 3N		402,22		402,22	30,31
Nitrito de sodio	38,53			38,53	2,90
Acetato de etilo		150	145	5	0,38
Ácido (R)-2-hidroxi-4-fenilbutírico	13,25	R%= 54,97			0,07535
Síntesis del (R)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo					
Materia Prima	Gramos	Millilitros	Recuperado	Consumo	Factor
Ácido (R)-2-hidroxi-4-fenilbutírico	6			6	1,00
Cloruro de tionilo	4,75			4,75	0,79
Etanol anhidro		60		60	9,98
Acetato de etilo		60	55	5	0,83
Sol. Saturada de Bicarbonato de sodio		60		60	9,98
(R)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo	6,01	R%= 82,72			0,1664

ANÁLISIS CON
DE ORIGEN



Tabla 3. Cantidades en Kg de materias primas requeridas para la obtención de 1 Kg de (R)- 2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo.

3-fenilpropionaldehído	3.93 KG
Cianuro de sodio	1.44 KG
Carbonato de amonio	4.02 KG
Agua	83.72 L
Metanol	2.85 L
Ácido clorhídrico conc.	12.99 L
Hidróxido de sodio	3.12 KG
Carbón activado	0.05 KG
Anhídrido acético	2.05 KG
Hidróxido de sodio 50%	5.87 KG
(S)-(-)-Metilbencilamina	0.05 KG
Ácido acético	0.05 KG
Ácido clorhídrico 1N	72.36 L
Ácido sulfúrico 3N	30.31 L
Nitrito de sodio	2.90 KG
Acetato de etilo	1.21 L
Cloruro de tionilo	0.79 KG
Etolanol anhidro	9.98 L
Sol. Saturada de Bicarbonato de sodio	9.98 L

Tabla 4. Intermedios en la síntesis del (R)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo.

5-feniletíl-imidazolín-2,4-diona	4.22 KG
Ácido (R,S)-2-amino-4-fenilbutírico	2.77 KG
Ácido (R,S)-2-acetamido-4-fenilbutírico	3.06 KG
Ácido (R)-2-acetamido-4-fenilbutírico	2.88 KG
Ácido (R)-2-amino-4-fenilbutírico	1.81 KG



Todos los compuestos obtenidos fueron caracterizados por RMN de ^1H y ^{13}C , además de espectroscopia de infrarrojo. Los datos espectroscópicos se presentan en las Tablas 5 a 14 y los espectros correspondientes se presentan en el anexo 10.1.

Los desplazamientos químicos de ^1H y ^{13}C de los compuestos **2**, **3**, **4**, (**R**)-**6** y (**R**)-**7**, muestran, para el caso de ^1H , las señales características de los protones de un anillo aromático monosustituído como una señal múltiple en la zona comprendida entre 7.10 a 7.35 ppm.

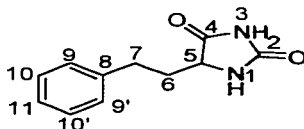
En el caso de ^{13}C para los compuestos antes mencionados, los desplazamientos para los carbonos del anillo aromático se encontraron comprendidos dentro de la zona de 126.00 a 129.00 ppm y para el carbono ipso* entre 140.00 a 141.00 ppm; siendo característico para todos los compuestos sintetizados por presentar la misma base en su esqueleto estructural.

El compuesto **5** presentó los siguientes desplazamientos en RMN de ^1H para H-5, H-6 y H-7 como un doble de dobles en 4.10 ppm, un doble de dobles de triples de 1.89 a 2.12 ppm y un triplete en 2.73 ppm; estas señales se deben al acoplamiento de los protones H-7 y H-6 por comportarse como protones diasterotópicos.

Los desplazamientos en RMN de ^{13}C para C-2 y C-4 del mismo compuesto se presentaron en 158.97 ppm y 177.09 ppm respectivamente, debido a la densidad electrónica de los grupos funcionales presentes; por lo cual se observan en campos más bajos.

*Carbono sin hidrógenos, totalmente cuaternario que en RMN ^{13}C es el que se encuentra a campos bajos y con una intensidad pequeña, debido a que su relajación no es tan rápida como la de un carbono normal.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



	H-6	H-7	H-1	H-5	H-(9, 10, 11)
δ	1.89 - 2.12	2.73	3.32	4.10	7.16 - 7.32
	(ddt)	(t)	(s)	(dd)	(m)

Tabla 5. Desplazamientos químicos de ^1H (ppm) para la 5-Fenilet-ilimidazolin-2,4-diona (2).

	C-7	C-6	C-5	C-11	C-9	C-10	C-8	C-2	C-4
δ	30.87	33.80	58.20	126.24	128.48	128.56	141.02	158.97	177.09

Tabla 6. Desplazamientos químicos de ^{13}C (ppm) para la 5-Fenilet-ilimidazolin-2,4-diona (2).

Para los compuestos **3**, **4**, (**R**)-**6** y (**R**)-**7**, los desplazamientos en RMN de ^1H para H-2, H-3 y H-4, se mostraron en un rango de 3.80 ppm a 4.40 ppm para H-2, para H-3 en 1.90 ppm a 2.25 ppm y para H-4 en 2.50 ppm a 2.85 respectivamente; las señales obtenidas se presentaron como tripletes, doble de dobles y multipletes debido al acoplamiento de los protones.

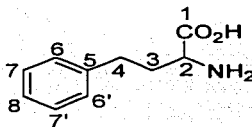
En el caso de RMN de ^{13}C , los desplazamientos de los compuestos antes mencionados para C-2, C-3 y C-4 se presentaron en los siguientes rangos; para C-2 en 52.0 ppm a 70.0 ppm, para C-3 en 31.5 ppm a 36.5 ppm y para C-4 de 30.0 ppm a 32.5 ppm.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Dado que la serie de compuestos sintetizados presentaban la misma base en su esqueleto estructural, los desplazamientos en RMN de ^1H y ^{13}C se esperaban que fuesen muy parecidos, lo cual fue confirmado con los datos obtenidos en este trabajo.

De igual forma los compuestos **2**, **3**, **4**, (**R**)-**6** y (**R**)-**7**, presentaron señales características para carbonilos y metilos en rangos de 170 ppm a 180 ppm y 14 ppm respectivamente.



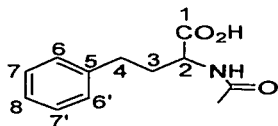
	H-3	H-4	H-2	H-(6, 7, 8)
δ	1.93 – 2.15	2.59	3.89	7.11 – 7.19
	(m)	(m)	(t)	(m)

Tabla 7. Desplazamientos químicos de ^1H (ppm) para el Ácido (*R,S*)-2-amino-4-fenilbutírico (3).

	C-4	C-3	C-2	C-8	C-6	C-7	C-5	C-1
δ	30.58	31.72	52.57	126.90	128.75	129.08	140.26	171.99

Tabla 8. Desplazamientos químicos de ^{13}C (ppm) para el Ácido (*R,S*)-2-amino-4-fenilbutírico (3).

TESIS CON
TABLA DE ORIGEN

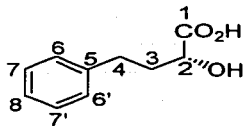


	H-3	H-CH ₃	H-4	H-2	H-(6, 7, 8)
δ	1.91 – 2.20	2.02	2.73	4.35	7.15 – 7.31
	(m)	(s)	(m)	(dd)	(m)

Tabla 9. Desplazamientos químicos de ¹H (ppm) para el Ácido (R,S)-2-acetamido-4-fenilbutírico (4).

	C-CH ₃	C-4	C-3	C-2	C-8	C-7	C-6	C-5	C-1	C-
δ	21.33	32.11	33.50	52.29	126.14	128.49	128.49	141.23	172.44	174.46

Tabla 10. Desplazamientos químicos de ¹³C (ppm) para el Ácido (R,S)-2-acetamido-4-fenilbutírico (4).

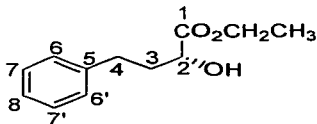


	H-3	H-4	H-2	H-(6, 7, 8)
δ	1.99 – 2.21	2.81	4.27	7.23 – 7.29
	(m)	(t)	(dd)	(m)

Tabla 11. Desplazamientos químicos de ¹H (ppm) para el Ácido (R)-2-hidroxi-4-fenilbutírico ((R)-6).

	C-4	C-3	C-2	C-8	C-6	C-7	C-5	C-1
δ	31.00	35.66	69.49	126.18	128.49	128.56	140.71	179.73

Tabla 12. Desplazamientos químicos de ¹³C (ppm) para el Ácido (R)-2-hidroxi-4-fenilbutírico ((R)-6).



	H-CH ₃	H-3	H-4	H-OH	H-2	H-CH ₂	H-(6, 7, 8)
δ	1.29	1.95 - 2.14	2.77	2.93	4.19	4.22	7.18 - 7.32
	(t)	(m)	(m)	(s)	(t)	(m)	(m)

Tabla 13. Desplazamientos químicos de ^1H (ppm) para el (*R*)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo ((*R*)-7).

	C-CH ₃	C-4	C-3	C-2	C-CH ₂	C-8	C-6	C-7	C-5	C-1
δ	14.22	31.06	36.02	61.75	69.71	126.05	128.45	128.60	141.22	175.25

Tabla 14. Desplazamientos químicos de ^{13}C (ppm) para el (*R*)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo ((*R*)-7).

Los datos de IR para la serie de compuestos obtenidos, presentaron bandas características de un anillo monosustituido en una región de 600 a 900 cm^{-1} , para los ácidos carboxílicos en 1600 a 1800 cm^{-1} , para los alcoholes en 3100 a 3500 cm^{-1} , para la amida en 3100 a 3400 cm^{-1} y para el ester en 1700 a 1750 y 1100 a 1300 cm^{-1} ; siendo estas bandas las más representativas para la identificación de los compuestos obtenidos.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



9. Conclusiones.

Se logró desarrollar un proceso eficiente de síntesis de la 5-feniletilimidazolin-2,4-diona (**2**), mejorando sustancialmente los rendimientos descritos en la literatura. Así mismo, se desarrolló un procedimiento para su hidrólisis alcalina y se desarrolló y optimizó un proceso eficiente para la obtención y resolución del N-acetamido.

Se reprodujo el proceso de obtención del (*R*)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo ((**R**)-**7**) a partir del ácido (*R*)-2-amino-4-fenilbutírico ((**R**)-**3**).

Con el fin de establecer una síntesis enantioconvergente se logró racemizar el ácido (*S*)-2-amino-4-fenilbutírico ((**S**)-**3**) para su reciclo en el proceso de resolución.

La polarimetría, fue la técnica que permitió demostrar la pureza óptica del compuesto obtenido.

Se presenta la relación de insumos para la preparación de 1Kg de producto final, considerando la recuperación y rehúso de algunos materiales.

Se queda como propuesta evaluar el proceso de transformación del enantiómero ácido (*S*)-2-amino-4-fenilbutírico por inversión de configuración, en el (*R*)-2-hidroxi-4-fenilbutirato de etilo. Así mismo, queda pendiente la optimización de la resolución enzimática, que eventualmente podría presentar ventajas económicas y ambientales.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



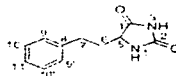
10. Anexo.

10.1 Espectros de resonancia magnética nuclear ^1H , ^{13}C e infrarrojo.

REGISTRO CON
FOLIA DE ORIGEN



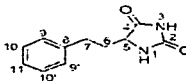
Espectros de resonancia magnética nuclear e infrarrojo.



H(9, 10, 11)

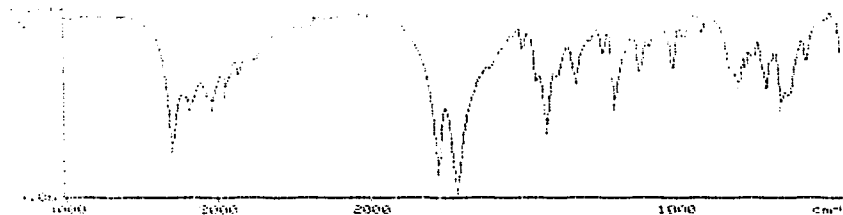
H5 H1 H7 H6

Espectro 1. RMN ^1H para el compuesto (2). 5-Feniletíl-imidazolin-2,4-diona.

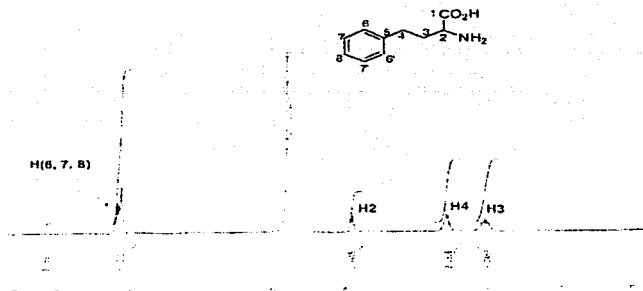


C9 C10
C4 C2 C8 C11 C5 C7 C6

Espectro 2. RMN ^{13}C para el compuesto (2). 5-Feniletíl-imidazolin-2,4-diona.

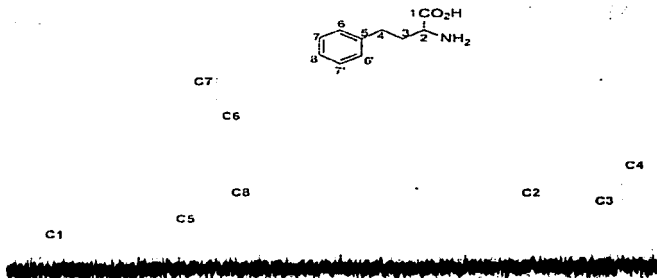


Espectro 3. IR para el compuesto (2). 5-Feniletil-imidazolin-2,4-diona.

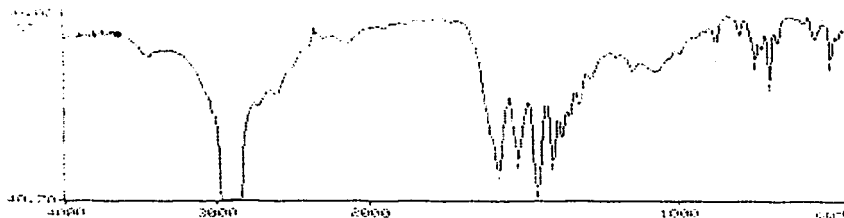


Espectro 4. RMN ^1H para el compuesto (3). Ácido 2-Amino-4-fenilbutírico.

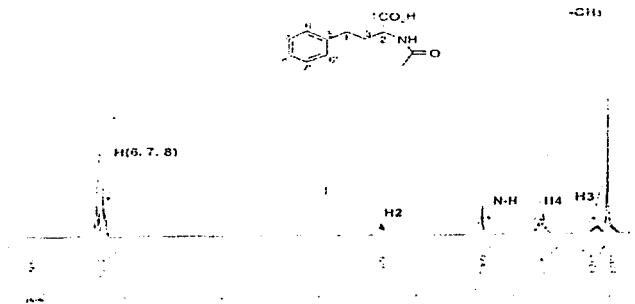
PREPARED CON
BARRA DE ORIGEN



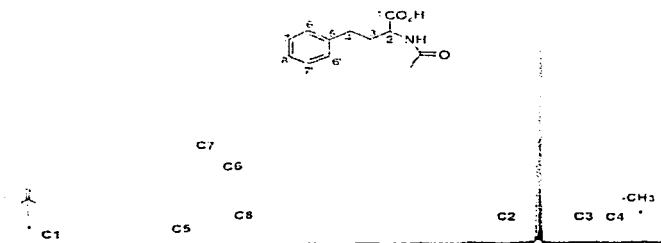
Espectro 5. RMN ^{13}C para el compuesto (3). Ácido 2-Amino-4-fenilbutírico.



Espectro 6. IR para el compuesto (3). Ácido 2-Amino-4-fenilbutírico.

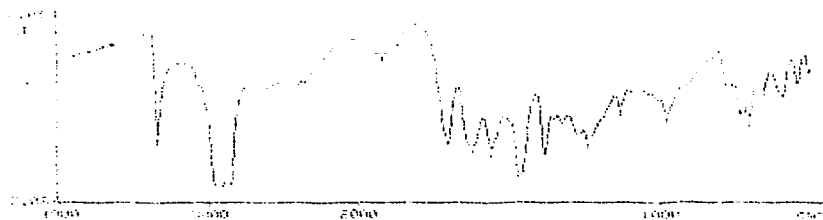


Espectro 7. RMN ^1H para el compuesto (4). Ácido 2-Acetamido-4-fenilbutírico.

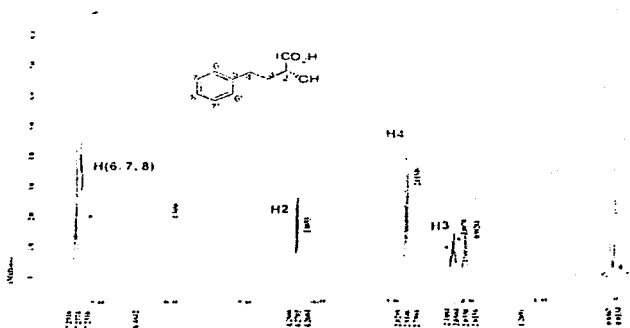


Espectro 8. RMN ^{13}C para el compuesto (4). Ácido 2-Acetamido-4-fenilbutírico.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

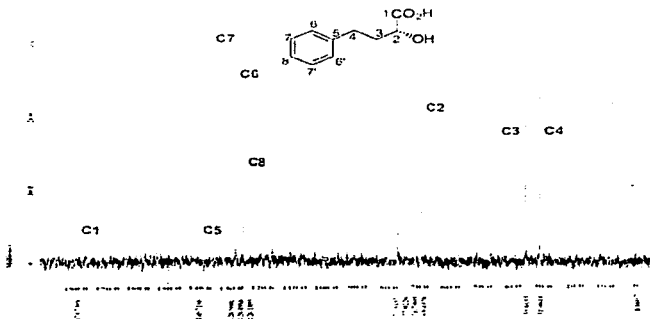


Espectro 9. IR para el compuesto (4). Acido-2-Acetamido-4-fenilbutirico.

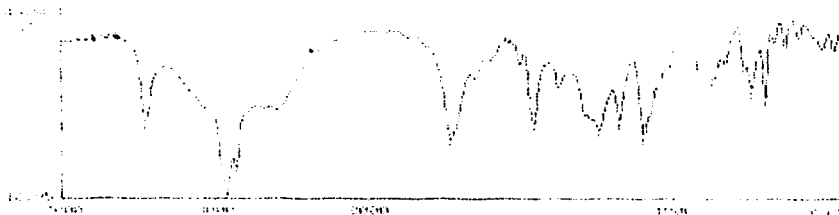


Espectro 10. RMN ^1H para el compuesto ((R)-6). Acido 2-Hidroxi-4-fenilbutirico.

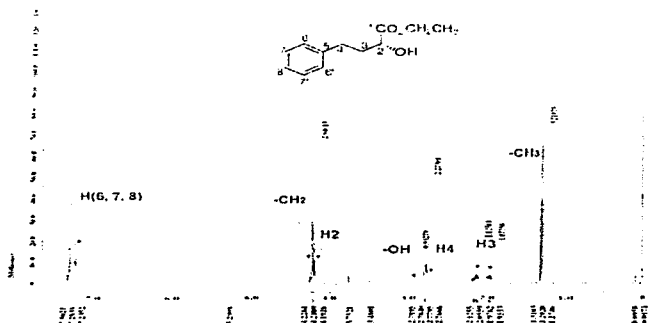
TRABAJOS CON
FALLA DE ORIGEN



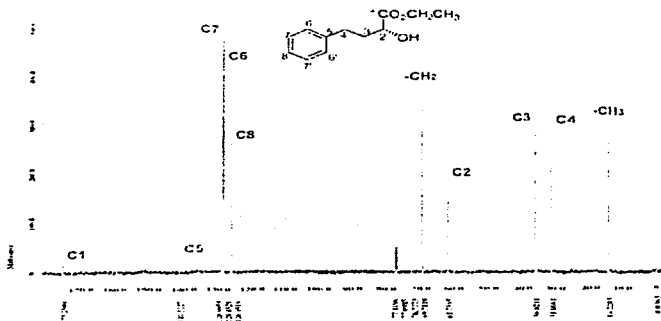
Espectro 11. RMN ¹³C para el compuesto ((R)-6). Ácido 2-Hidroxi-4-fenilbutírico.



Espectro 12. IR para el compuesto ((R)-6). Ácido (R)-2-Hidroxi-4-fenilbutírico.

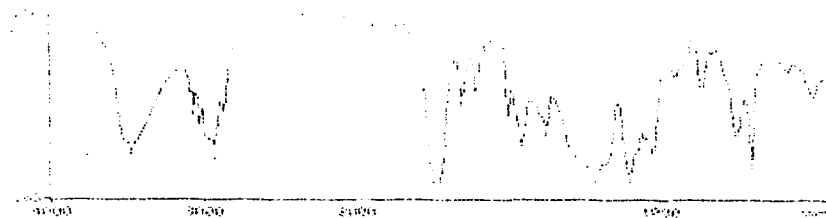


Espectro 13. RMN ¹H para el compuesto ((R)-7). (R)-2-Hidroxi-4-fenilbutirato de etilo.



Espectro 14. RMN ¹³C para el compuesto ((R)-7). (R)-2-Hidroxi-4-fenilbutirato de etilo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

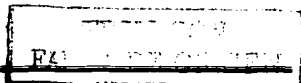


Espectro 15. IR para el compuesto ((R)-7). (R)-2-Hidroxi-4-fenilbutirato de etilo.



11. Referencias bibliográficas.

1. Plan de estudios de la carrera de QFB, UNAM Fes Zaragoza, **2001**.
2. Novartis. "Vida e hipertensión." <http://www.vidaehipertension.com/Publico/HT_Estadisticas.asp>, 6 de junio **2002**.
3. "Fármacos antihipertensores." <http://www.fitec.ull.es/docencia/farmacologia/HPTA/Antihipertensores%202001.htm#_ednt>, 9 de enero **2003**.
4. Goodman y Gilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 8ª Ed. Panamericana, México DF. **1991**.
5. Katzung B. *Farmacología básica y clínica*. 2ª Ed. Manual Moderno, México DF. **1986**.
6. Ondethi M.A., Rubin B. and Cushman D.W. "Desing of specific inhibitors of angiotensin converting enzyme new class of ovally active antihypertensive agents." *Science* **1977**, 196, 441-444.
7. Vázquez V.A., Cruz A.N., Vázquez C.A. y Milian P. A. "Inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina en el tratamiento de la hipertensión arterial." *Rev. Cubana. Farm.* **1998**, 32(3), 204-210.
8. Juaristi E. *Introduction to stereochemistry and conformational análisis*. J. Wiley & Sons. USA, **1991**.
9. Eliel E. and Wilen H. *Stereochemistry of organic compounds*. J. Wiley & Sons. USA, **1994**.
10. Enos A.J. "Biotransformaciones." <http://discovery.chillan.plaza.el/area_ciancias/articulos/biotecnologia/sld001.htm>, <http://webcd.unal.es/web/transgen00/Unidades/CURSO/UNI_04/u4c6s2.htm>, 9 de enero **2003**.
11. Guisan M.J. "Las enzimas como catalizadores en una industria sostenible de procesos químicos complejos." <<http://www.icp.csic.es/biocatalisis/>>, 9 de enero **2003**.





12. Smith M.C., Reynard M.A. *Farmacología*. Panamericana. Buenos Aires, 1993.
13. Silverman B. *The organic chemistry of drug desing and drug action*. Academic pres Inc. USA, 1992.
14. Jeffrey W., Stanton L., Mahesh D., Babiarz E. and Finn M. "Synthesis and biological propertiers of (carboxylalkyl) amino-substituted bicyclic lactam inhibitors of angiotensin converting enzyme." *J. Med. Chem.* **1985**, 28, 1511-1516.
15. Herold P., Indolese A.F., Studer M., Jalett H.P., Siegrist U. and Blaser H.U. "New Technical Synthesis of Ethyl (*R*)-2-Hydroxy-4-phenylbutyrate of High Enantiomeric Purity." *Tetrahedron* **2000**, 56, 6497-6499.
16. Iwasaki G., Kimura R., Numao N. and Kondo K. "A Practical and Diastereoselective Synthesis of Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors." *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, 37(2), 280-283.
17. Wen-Qing, Ze He, Yi Jing, Xin Cui, Hui Liu and Ai-Qiao Mi. "A practical synthesis of ethyl (*R*)- and (*S*)-2-hydroxy-4-phenylbutanoato and D-homophenylalanine ethyl ester hydrochloride from L-malic acid." *Tetrahedron: Asymmetry* **2001**, 12, 1583-1587.
18. Macmurry J. *Química orgánica*. Iberoamérica, México DF. 1994.
19. Voet D. and Voet G.J. *Bioquímica*. Omega, Barcelona. 1992.
20. Pine S.A. *Química orgánica*. 4ª Ed. McGraw - Hill, México DF. 1991.
21. Kirk - Othmer. *Encyclopedia of chemical technology*. 2ª Ed. Vol. 2. John Wiley & Sons, USA. 1963.
22. Coker J.M., Kohlhase W.L., Martens T.F., Rogers A.O. and Allan G.G. "A general route to hydantoins." *J. Org. Chem.* **1962**, 27(9), 3201-3204.
23. Kirk - Othmer. *Encyclopedia of chemical technology*. 3ª Ed. Vol. 12. John Wiley & Sons, USA. 1980.
24. Kirk - Othmer. *Encyclopedia of chemical technology*. 3ª Ed. Vol. 2. John Wiley & Sons, USA. 1978.
25. The merck index. *An encyclopedia of chemical, drug and biologicals*. 12ª Ed. Merck & Co. USA, 1996.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



26. Reinfenranth W.G., Bertelli D.J., Micklus M.J. and Fries D.S. "Stereochemistry of Friedel-Crafts addition of phthalylaspartic anhydride to benzene." *Tetrahedron Letters* **1976**, 25, 1959-1962.
27. Harold N. Weller. *Biphenyl Oxadiazinone Angiotensin II Inhibitors*. US 5 225 408. USA, **1993**.
28. Smith J.R., Bratnanov S. and Bienz S. "Synthesis of silicon - Containing α -Amino acids and hydantoinos." *Tetrahedron* **1997**, 53(40), 13695-13702.
29. Miyazawa Y., Oishi N. and Maehara K. *Preparation of optically active homophenylalanine by optical resolution via diastereomeric salts of racemic acetylhomophenylalanine*. JP 63063646 A2. **1986**.
30. Nakanishi K. *Infrared absorption spectroscopy*. Holden - Day, Inc. San Francisco USA, **1962**.
31. Jacques J. , Wilen S. and Collet A. *Enantiomers, racemates, and resolutions*. John Wiley & Sons. USA, **1981**.
32. Izumi Y., Chibata I. And Itho T. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1978**, 17, 176.

FALLA DE ORIGEN