

DEPARTAMENTO QUIMICA INORGANICA. FACULTAD DE
FARMACIA. UNIVERSIDAD DE GRANADA.

“NUEVO PRODECIMIENTO DE SINTESIS Y DATOS PARA LA
CARACTERIZACION DEL ACIDO
 β -MERCAPTOETILAMINOTRIACETICO (MET)”*

González Pérez, J.M., Fernández Martínez, M.L., González Moles, M.T., González García,
S. y Niclós Gutiérrez J.**

RESUMEN

Se propone la síntesis del ácido β -mercaptoetilaminotriacético, $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{SC}_2\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2$ (MET, H_3A), en base a la reacción a fondo de cistamina, $\text{S}_2(\text{C}_2\text{H}_4\text{NH}_2)_2$, con cloroacetato en medio alcalino, con rendimiento (70 %) superior al descrito para la condensación de cisteamina ($\text{HSC}_2\text{H}_4\text{NH}_2$) con cloroacetato (42 %). Se discute la estructura más probable de las especies de MET en disolución a partir de los valores de pK_a (1.93, 2.27, 3.52 y 9.05, para $I = 0.1\text{M}$ (KNO_3) y 25C°) y datos de (^1H)-RMN. Los espectros IR y datos de análisis térmico (TG,ATD) informan del ordenamiento estructural de $\text{MET}\cdot\text{H}_2\text{O}$ y $\text{MET}\cdot\text{HCl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ en estado sólido.

SUMMARY

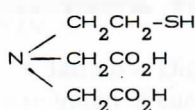
The back reaction of cystamine, $\text{S}_2(\text{C}_2\text{H}_4\text{NH}_2)_2$, and potassium chloroacetate in alkaline medium gives β -mercaptoethylaminotriacetic acid, $\text{HO}_2\text{CCH}_2\text{SC}_2\text{H}_4\text{N}(\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H})_2$ (MET, H_3A) with higher yield (70 %) than the reported synthesis in literature from cystamine ($\text{HSC}_2\text{H}_4\text{NH}_2$) and chloroacetate (42 %). The more probable structure of MET species in solution are discussed in the basis of its pK_a values (1.93, 2.27, 3.52 y 9.05, at 25C° and $I = 0.1\text{M}$ (KNO_3)) and ^1H -RMN data. The IR spectra and thermal analysis data give information about the structural arrangement of $\text{MET}\cdot\text{H}_2\text{O}$ and $\text{MET}\cdot\text{HCl}\cdot\text{H}_2\text{O}$ in solid state.

* Presentado a la XX Reunión Bienal Real Soc. Esp. Quim., Colegio Univ. Castellón, Univ. de Valencia, Castellón, Septiembre 1984.

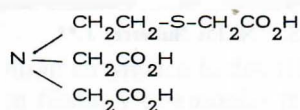
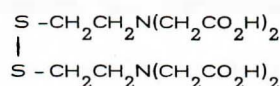
** Correspondencia Dep. quim. Inorgánica, Fac. Farmacia, Univ. Granada, 18072. Granada.

INTRODUCCION

Los quelatos metálicos de ligandos con dadores duros (O, N) y blandos (S) tienen interés bioinorgánico (1-3). A este tipo de quelantes pertenecen los aminoácidos azufrados y diversos productos de síntesis, como los ácidos β -mercaptoetilaminoacético (MED) (5), β -mercaptoetilaminotriacético (MET) (1,6-13) y N,N,N',N'-tetrakis(carboximetil)cistamina (TCC) (5,14-17) con azufre tiol, tioéter o disulfuro, respectivamente, como dador potencial.



(MED)

(MET, H₃A)

(TCC)

YASHUNSKII y cols. (5) prepararon TCC con bajo rendimiento por condensación de cistamina con cloroacetato y, además, señalaron que esta reacción en caliente y con exceso de cloroacetato conducía a buenos rendimientos de MET. El estudio de esta sustancia y su capacidad complejante ha sido objeto de varios artículos de DYATLOVA y cols. (6-9) y otros investigadores (10-13). PODLAHOVA (11) preparó el MET (H₃A) por condensación de cistamina y cloroacetato potásico, con un rendimiento del 42 % aislando y caracterizando este ácido y su clorhidrato, anhidro y monohidrato.

Este artículo propone un nuevo procedimiento para la preparación del MET en base a las observaciones de YASHUNSKII y cols. (5) y aporta nuevos datos para su caracterización estructural (pK_o, espectros RMN, datos de análisis térmico) y una interpretación alternativa de los espectros IR del ácido y su clorhidrato.

MATERIALES Y METODOS

Síntesis del ácido β -mercaptoetilaminotriacético monohidrato (MET.H₂O).

Se adicionan gota a gota 325.4 g (5.8 moles) de KOH en agua exenta de CO₂ (800 ml) sobre una disolución de 229 g (0.4 moles) de ácido cloroacético en 800 ml de agua, enfriada en baño de hielo-sal, con agitación y atmósfera de N₂. A la disolución resultante se le agregan 90.1 g (0.4 moles) de diclorhidrato de cistamina (Sigma Chem. Co.) neutralizados con 44.9 g (0.8 moles) de KOH en 300 ml de agua (exenta de CO₂) y enfriada en nevera). La mezcla de reacción amarillenta se deja reaccionar 2-3 semanas, en matraz cerrado y al abrigo de la luz. Se ajusta el pH a 6-7 con HCl 6N y se concentra a presión reducida y 60°C hasta 2/3 del volumen inicial. Se enfría en baño de hielo-sal y el producto inorgánico que precipita (\approx 2.5 moles de KCl) se separa por filtración.

Se adiciona HCl 6N, lentamente y con agitación intermitente, a los líquidos enfriados de la filtración hasta iniciar su precipitación, que se completa en reposo. El producto crudo que precipita, se filtra y se recristaliza de su disolución en HCl 10^{-1} M caliente, obteniéndose MET.H₂O como producto blanco microcristalino que se filtra, se lava con acetona y éter y se seca en corriente de aire y, después, sobre P₄O₁₀. Rendimiento: 188.5 g (70 %). La sustancia pierde el agua de cristalización a 110°C y funde con descomposición a 208°C (208°C en ref. 11 y 204.5°C en ref. 13). $PM_{\text{exp}} = 265.0$; H₂O (TG) = 5.2 %. Calculado para C₈H₁₅NO₇S: $PM = 269.28$; H₂O = 6.69 %.

Clorhidrato de MET monohidrato (H₄ACl.H₂O). Se aisló por un procedimiento análogo al descrito por PODLAHOVA (11) como pequeños cristales blancos. Pf = 114°C. Descompone a 140°C. $PM_{\text{exp}} = 303.6$ H₂O (TG) = 5.2 %. Para C₈H₁₆NO₇SCl: $PM = 305.74$. H₂O = 5.89 %.

Valoraciones potenciométricas y conductimétricas. Se valoraron disoluciones acuosas ($1-4 \times 10^{-3}$ M) de MET y de MET.HCl (25 ml) frente a KOH 0.1M titulada (exenta de CO₂), en atmósfera inerte (N₂) y a $25.00 \pm 0.05^\circ\text{C}$, con valorador automático Radiometer RTS 622, acoplado con un conductímetro Radiometer CDM 3 y un baño termostato-criostato Selecta. Para los cálculos de pK_a se usaron datos de disoluciones con fuerza iónica ajustada $I = 0.1\text{M}$ (KNO₃) y se consideró $pH_s = pH(\text{NBS}) - 0.04(18)$.

Espectros RMN. Se registraron los espectros ¹H-RMN de MET (en DC1 y en DMSO-d₆) y de MET.HCl (en D₂O) en un espectrofotómetro Hitachi Perkin-Elmer, modelo R-20 (60 MHz), operando a temperatura ambiente (20-25°C), con DSS (D₂O) o TMS (DMSO) como referencia interna, tiempos de barrido 400s y de integración 100s y ancho de barrido 600Hz, con disolventes (Sigma Chem. Co.) de 99,9 %

Espectros IR. Los espectros IR de muestras sólidas de MET.H₂O y MET.HCl.H₂O en comprimido de KBr (Urvasol, E. Merck) se obtuvieron en un espectrofotómetro Beckman 4260, de alta resolución.

Análisis térmico. Se registraron las curvas de TG y DTA de muestras sólidas (≈ 10 mg) de MET.H₂O y MET.HCl.H₂O en un sistema para análisis térmico Rigaku, modelo Thermoflex, entre temperatura ambiente y 700°C, en atmósfera de aire y con velocidad de calentamiento de 5°C/min.

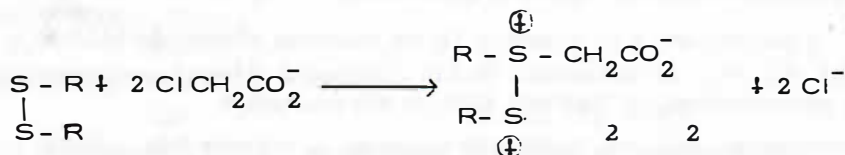
Cálculos. Los pK_a de MET (H₃) se obtuvieron con datos potenciométricos de una disolución 2.50×10^{-3} M por el método de IRVING y DA SILVA (19). El pK₀ para la disolución de H₄A⁺ se estimó con 10 datos potenciométricos de una disolución de MET.HCl (3.38×10^{-3} M) uniformemente distribuidos en el intervalo de valoración $0 \leq a \leq 0.52$ ($a = \text{Eq KOH/mol MET.HCl}$) por el procedimiento algebraico descrito por S. GONZALEZ GARCIA y cols. (20). Los cuatro valores de pK_a, así obtenidos, se usaron para

construir los diagramas del grado de formación, $\alpha_i = f(\text{pH})$, y de distribución, $y_i = f(\text{pH})$, de las especies $\text{H}_i\text{A}^{(3-i)-}$ en que se disocia H_4A^+ y la función de formación de BJERRUM, $\bar{n}_i = f(\text{pH})$, por métodos descritos en la bibliografía (21). Se calculó también el grado de formación de las especies de MET en equilibrio a distintos valores de pH de una curva potenciométrica de MET.HCl.

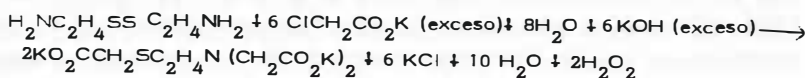
RESULTADOS Y DISCUSION

Síntesis del ácido β -mercaptoetilaminotriacético (MET).

En un estudio anterior describimos la obtención de TCC por reacción de cistamina y cloroacetato con rendimientos del orden del 50 % (15,16). Nuestros esfuerzos por mejorar estos resultados en base a forzar la concentración de cloroacetato, operando a temperatura ambiente, llevaron al aislamiento del MET, de acuerdo con lo observado por YASHUNSKII y cols. (5) para otras condiciones experimentales. Esta reacción secundaria, que interfiere en la preparación de TCC, ofrece sin embargo una ruta alternativa para la síntesis de MET, con un interesante rendimiento práctico (70 % por el procedimiento que se aporta en el presente artículo). La reacción implica la condensación de los grupos amino y la ruptura reductiva del enlace azufre-azufre por dos electrones de la cistamina. Esta reducción del puente disulfuro equivale a la formación de dos moles de cisteamina (por mol de cistamina) que, a su vez, reaccionaría con cloroacetato. Sin embargo, la notable diferencia de rendimiento del método propuesto (70 %) y el de PODLAHOVA (42 %) no quedaría justificada en estos términos, por lo que el mecanismo de la reacción debe suponer un ataque directo, tal vez doble, del cloroacetato sobre el grupo ditio para dar dos iones Cl^- y un intermedio de disulfonio, que se reduciría después:



Se desconoce la naturaleza del proceso oxidativo que necesariamente ha de acoplarse a la reducción del puente disulfuro de la cistamina, entre los que cabe considerar la formación del peróxido de hidrógeno ($2 \text{OH}^- \rightarrow \text{H}_2\text{O}_2 + 2 \text{e}^-$) que, a su vez, se descompondría en agua o daría otros procesos secundarios. De hecho, se ha observado el desprendimiento de gases de la mezcla de reacción, acidulada y parcialmente desalinizada, de la que se aísla el MET. De confirmarse esta hipótesis, la estequiometría global del método propuesto sería:



Caracterización del MET en disolución.

El comportamiento potenciométrico y conductímetro del MET es análogo al del ácido nitrilotriacético (NTA) y otros ácidos aminotricarboxílicos, con dos grupos de acusada fuerza ácida y otro, mucho más débil, que se valora en medio alcalino. Como era de esperar, las valoraciones de MET.HCl se describen por los equilibrios:

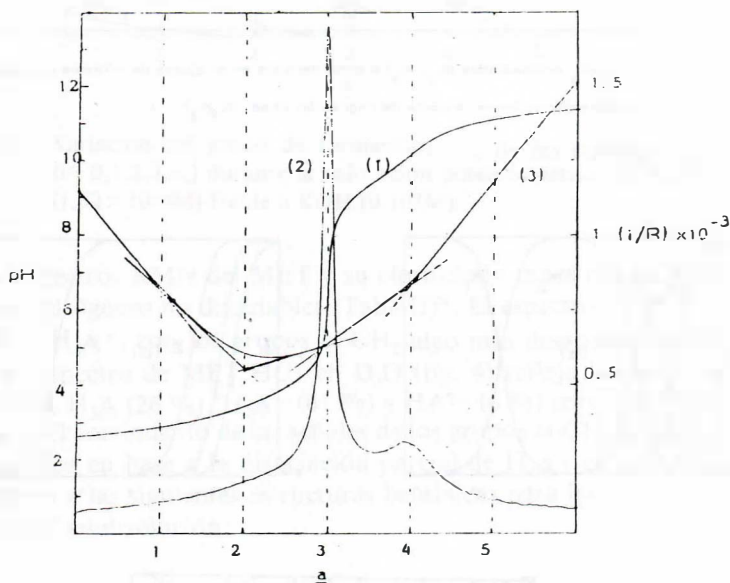
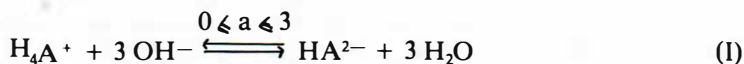


Fig. 1.- Valoración (1) potenciométrica, (2) primera derivada y (3) valoración conductímetro del clorhidrato MET.HCl ($1,66 \times 10^{-3}$ M) frente a KOH (0,103 M). $a = \text{Eq MET.HCl/mol KOH}$.

Los valores de pK_a del MET y los datos potenciométricos de MET.HCl con $a \leq 0.52$ conducen al valor algebráico de $\text{pK}_0 = 1.93$ (Tabla I) para la primera disociación de H_4A^+ , magnitud no aportada por estudios anteriores (6-13). Los diagramas construidos con los cuatro pK_a (fig. 2-a y b) difieren del diagrama propuesto por PODLAHOVA (11) para el MET (fig. 2-c), sobre todo en lo relativo al solapamiento de las tres primeras disociaciones de la especie H_4A^+ , reflejado en el hábito potenciométrico de MET.HCl (fig. 1) y

confirmado por nuestros cálculos del grado de formación de las especies en el curso de su valoración (fig. 3). La diferencia $pK_1 - pK_0 = 0.34$ es menor que la predicha en términos estadísticos para la disociación de dos grupos equivalentes y no interactuantes ($\Delta pK_a = 0.6$) (22).

TABLA 1.- Valores de pK_a del ácido MET

pK_0	pK_1	pK_2	pK_3	Fuerza iónica(I.)	T (°C)	Ref.
$1,93 \pm 0,03$	2,27	3,52	$9,05 \pm 0,01$	0,1M(KNO_3)	25	-
(N=10)	($r^2=0.98$;N=28)	($r^2=0.99$;N=26)	(N=8)			
-	1,97	3,53	8,82	0,1M($NaClO_4$)	25	(11, 13)
-	2,02	3,23	9,00	?	?	(5)

N= nº de valores de pK_a promediados (K_0, K_3) o considerados en el ajuste de mínimos cuadrados (K_1, K_2)
 r^2 = coeficiente de determinación de la recta de regresión lineal (K_1, K_2)

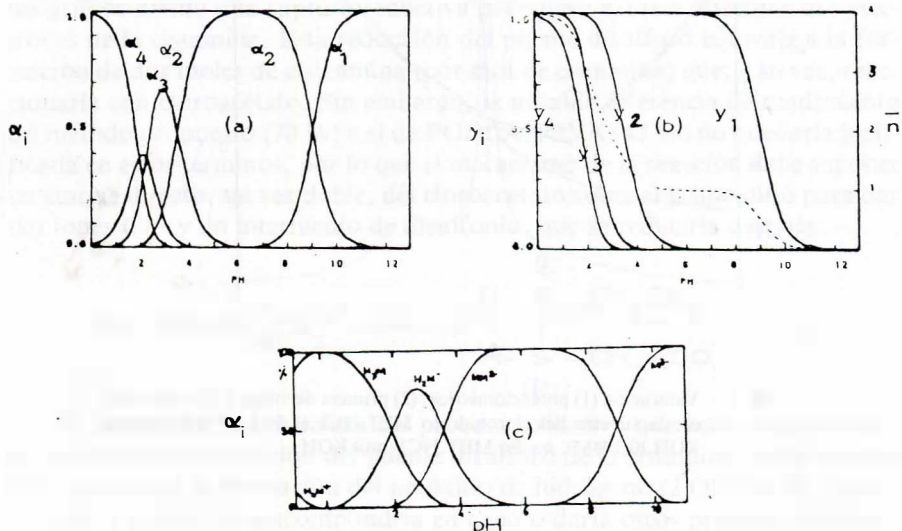


Fig. 2.- Diagramas (a) del grado de formación α_i y (b) de distribución y_i de las especies $H_3A^{(3-)}$ y (b, línea discontinua) de la función de formación \bar{n} del ácido MET, construidos con $pK_a = 1.93, 2.22, 3.52$ y 9.05 . (c) Diagrama de formación del MET según ref. (11).

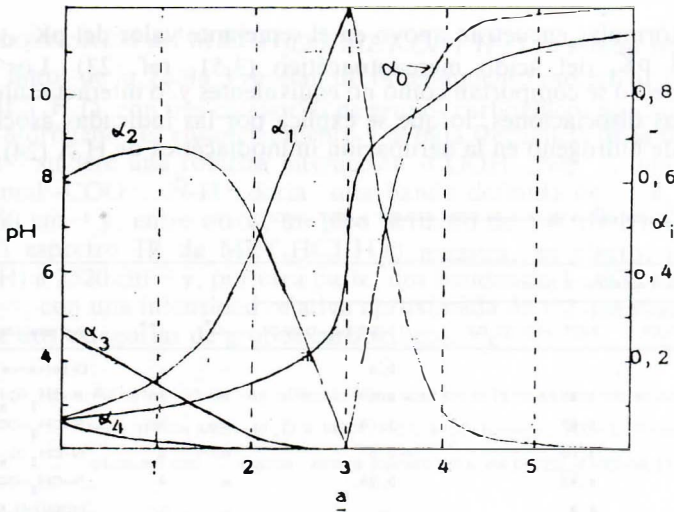
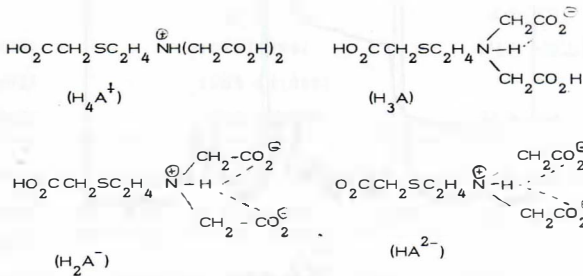


Fig. 3.- Variación del grado de formación, α_i , de las especies $H_4A^{(3-i)-}$ ($i=0,1,2,3,4$) durante la valoración potenciométrica de MET.HCl ($1,62 \times 10^{-3}M$) frente a KOH (0.103M).

Los espectros RMN del MET y su clorhidrato muestran señales asignables a sus hidrógenos no disociables (TablaII)*. El espectro en DCL + D₂O es asignable a H₄A⁺, con los grupos N-CH₂ algo más desapantallados que los S-CH₂. El espectro de MET.HCl en D₂O (fig. 4) refleja la contribución de H₄A⁺ (6 %), H₃A (26 %), H₂A⁻ (61 %) y HA²⁻ (6 %) según se desprende de la figura 3. El corrimiento de las señales de los grupos N-CH₂ en ambos espectros se explica en base a la disociación parcial de H₄A⁺ en la disolución de MET.HCl y a las siguientes estructuras betaínicas para las especies protonadas del MET en disolución:



* Los protones del grupo etileno S-CH₂CH₂-N se comportan como un sistema A₂B₂ y cada uno de sus grupos CH₂ da una señal múltiple (23), estando ambas adosadas en el espectro del MET en DMSO.

Estas fórmulas encuentran apoyo en el semejante valor del pK_2 del MET (3.52) y el pK_1 del ácido mercaptoacético (3.51, ref. 23). Los grupos N-carboximetilo se comportan como no equivalentes y/o interactuantes en las dos primeras disociaciones, lo que se explica por las indicadas asociaciones por enlace de hidrógeno en la agrupación iminodiacética de H_3A (24).

TABLA II. - Datos de los espectros RMN de MET y MET. HCl

Desplazamiento químico, δ (ppm)					
MET (DCI + D_2O)	MET. HCl (D_2O)	MET (d_6 -DMSO)	M [*]	I ^{**}	Asignación
-	-	2,5	-	-	Disolvente (DMSO)
3,32	3,35	~ 2,6	m	2	S-CH ₂ -C _{alq}
3,70	3,67	3,10	s	2	S-CH ₂ -COO
3,82	3,70	~ 2,6	m	2	N-CH ₂ -C _{alq}
4,60	4,45	3,25	s	4	N-CH ₂ -COO
7,1	4,9	-	-	-	H ₂ O/H ₂ O ⁺
-	-	8.0	s(a)	5	Hdisoc + H ₂ O ₂

* M (multiplicidad): m= multiplete; s= singulete, (a) = señal ensanchada

** I (integración): nº de hidrógenos

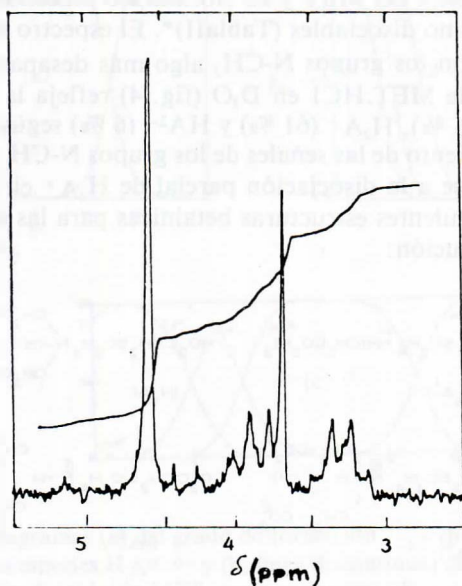


Fig. 4.- Espectro RMN de MET en DCI + D_2O (en parte).

Caracterización del MET.H₂O y MET.HCl.H₂O en estado sólido.

Los datos de la Tabla 3 revelan un ordenamiento molecular (no betainico) de MET.H₂O, con tres categorías de grupos carboxílicos asociados por enlaces de hidrógeno. El ensanchamiento y la baja frecuencia de la banda hacia 1600 cm⁻¹ sugiere una robusta interacción -COOH...N⁺, que una situación formal -COO-...N⁺-H⁺ daría una banda definida de $\nu_{as}(\text{COO}^-)$ a 1600-1560 cm⁻¹ y, entre otros, un pico definido de $\nu(\text{N}^+-\text{H})$ a 2560-2520 cm⁻¹. El espectro IR de MET.HCl.H₂O muestra, en efecto, un pico de $\nu(\text{N}^+-\text{H})$ a 2520 cm⁻¹ y, por otra parte, dos bandas de $\nu(\text{C}=\text{O})$ a 1750 y 1725 cm⁻¹, con una intensidad relativa aproximada de 1:2 que sugiere la existencia de dos categorías de grupos carboxílicos.

TABLA III. - Asignación de las absorciones características de los espectros IR de MET.H₂O y MET.HCl.H₂O (compr. KBr).
 cías en cm⁻¹. Datos entre paréntesis de PODLAHOVA (11).

MET.H ₂ O	MET.HCl.H ₂ O	Asignación
3480 f (3440)	* { 3560 f (3575 ?) 3385 f (3390)	$\nu(\text{OH})$ de H ₂ O
3080 f (3060 ?) **	.	
3020 d	3020 d	$\nu_{as}(\text{CH}_2)$
3000 d	2980 d	
2980 d	2969 d	
2960 d	—	
— (3060 ?)	2520 d (3035)	$\nu(\text{N}^+-\text{H})$
1730 f (1730)	1750 (f)	$\nu(\text{C}=\text{O})$ de -COOH _{as} o
1700 f	1725 (f) (1730)	
~ 1600 fa		
~ 1630 ma	1625 m	$\delta(\text{H}_2\text{O})$
1075 d (1080)	1078 (1085)	$\nu(\text{C}-\text{N})/\nu(\text{C}-\text{N}^+)$
1045 d (1062)	1055 d (1060)	
645 m (660)	635 m (675)	$\nu(\text{C}-\text{S})$

* Desdoblamiento de la banda de $\nu(\text{O}-\text{H})$ de H₂O, esperada hacia 3470 cm⁻¹, por resonancia de Fermi con el sobretono a 3450 cm⁻¹ de la banda $\nu(\text{C}=\text{O})$ a 1725 cm⁻¹.

** Banda de combinación $\nu(\text{C}=\text{O})$ (1700 cm⁻¹) \pm [$\nu(\text{C}-\text{O})$ \pm $\delta(\text{OH})$] (1400 cm⁻¹) de -COOH.

Símbolos: f= fuerte, m= media, d=débil, a=ancha; ν =vibr. tensión,

δ =deformación, as=antisimétrica, s= simétrica.

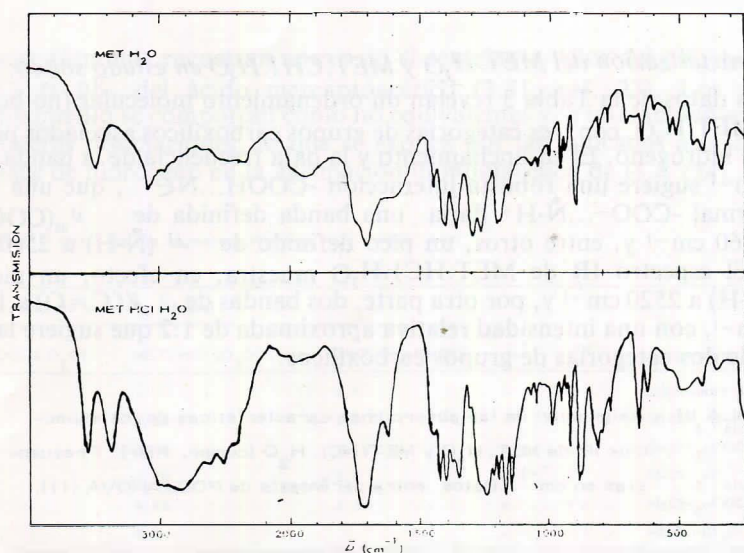


Fig. 5.- Espectros IR de muestras sólidas (A) de MET.H₂O y (B) de MET.HCl.H₂O (comprimido de KBr).

TABLA IV. Datos del análisis térmico de MET. H₂O*

Etapa	T (°C)	TG (pérdidas de peso, %) **		ATD		Posible grupo perdido
		Experimental	Calculada	Efectos (T _{max} , °C)		
I	180 - 212	18, 18	17, 92	Endo (205)		- COOH
II	21	36, 36	35, 83	Endo (220)		2 2-243DOH
III	245 - 420	34, 09	35, 08	Exos, endo		-S-CH ₂ -N(CH ₂) ₂
IV	420 - 600	11, 36	11, 17	Exos (385, 590)		-CH ₂ CH ₂ -

* Entre 85 - 120°C pierde 5,33 % (H₂O); pérdida calculada (MET.H₂O)= 6,7 %

** Pérdidas referidas a MET anhidro

TABLA V. Datos del análisis térmico de MET. HCl.H₂O

Etapa	T (°C)	TG (pérdidas de peso, %)		ATD		Posible grupo perdido
		Experimental	Calculada	Efectos (T _{max} , °C)		
I	65-108	-	-	Endo (85)		(Ruptura enlaces hidrógeno)
II	108-125	-	-	Endo (114)		(Fusión)
III	140-170	5, 2	5, 89	Endo (170)		H ₂ O
IV	170-200	12, 5	11, 9	Endo (195)		HCl
V	200 - 240	29, 2	29, 5	Endo (217)		2 -COOH
VI	240-450	40, 6	43, 6	Endos, exos		-S-CH ₂ COOH, -N(CH ₂) ₂
VII	450-600	12, 5	9, 2	Endos, exos		-CH ₂ CH ₂ -

Los datos del análisis térmico revelan notorias diferencias en la estabilidad térmica de MET.H₂O (Tabla IV) y MET.HCl.H₂O (Tabla V), que funde a 114°C antes de iniciar su descomposición a 140°C. El ácido MET, anhidro a 120°C, inicia su descomposición a 180°C con la posible pérdida de un grupo carboxílico, mientras que la deshidratación y eliminación de HCl del clorhidrato (entre 140 y 170°C) parece seguirse de una doble descarboxilación. Aunque el acusado solapamiento de las descarboxilaciones en ambos sólidos dificulta la interpretación de los datos, el análisis térmico muestra también diferentes categorías de grupos carboxílicos en ambos sólidos.

BIBLIOGRAFIA

- (1) J.M. GONZALEZ PEREZ, J. NICLOS GUTIERREZ GARCIA, "Nuevas síntesis y datos para la caracterización del ácido β -mercaptoetilaminotriacético (MET)". Comunic. Científ., XX Reunión Bienal Real Soc. Esp. Quím., Colegio Univ. de Castellón (Univ. Valencia), Castellón, 1984.
- (2) A.M. FIABANE y D.R. WILLIAMS, "Principles of Bioinorganic Chemistry". Monog. for teacher num. 31, The Chemical Soc., London, 1977.
- (3) H. SIEGEL (Edit.), 'Metal Ions in Biological Systems'. Marcel Dekker, New York. Vol. 9 (1979).
- (4) G. SCHWARZENBACH, G. ANDEREGG, W. SCHNEIDER y H. SENN, Helv. Chim. Acta, 38, 4147 (1955).
- (5) V.G. YASHUNKII, O.I. SAMOILOVA, N.M. DYATLOVA y O.Y. LAVROVA, Zhur. Obshch. 32, 3372 (1962).
- (6) N.M. DYATLOVA y B.I. BIKHMAN, Trudy Vsesoyuz Nauk Issledovatel, Inst. Chim. Reaktivov, 25, 400 (1963). C.A. 60:15128 (1964).
- (7) N.M. DYATLOVA, J.F. BELUGING y V.J. TEMKINA, Trudy Sovescanija Fiz. Metodam. Issled. Organ. Sojed. Chim. Processov-Akad Nauk Kirgiz. SSSR, Inst. Org. Chem. Frunze, 55 (1962) C.A. 62:2288 (1965).
- (8) R.P. LASTOVSKI, N.M. DYATLOVA, V.J. TEMINKA, I.D. KOLPAKOVA y O.J. LAVROVA, Anal. Chem. Proc. Int. Symp. Birmingham Univ., p. 165 (1962) C.A. 62:13813 (1965).
- (9) N.M. DYATLOVA, V.J. TEMINKA y N.N. BARCHANOVA, Vsesojuz. Nauk. Issledovatel. Inst. Chim. Reaktivov, 30, 265 (1967) C.A. 68:83909 (1968).
- (10) J. CH. CHU, J-Y. WANG y J.P. CHANG, Hua Hsüeh Pao, 30, 258 (1964) C.A. 61:13180 (1964).
- (11) J. PODLAHOVA, Collect. Czechoslov., Chem. Commun., 39, 2724 (1974).
- (12) J. PODLAHOVA, Collect. Czechoslov., Chem. Commun., 40, 3306 (1975).
- (13) N.A. EZERSKAYA y L.K. SHUBOCHKIN, Russ. J. Inorg. Chem. 28, 854 (1983).
- (14) G. SCHWARZENBACH, H. SENN y G. ANDEREGG, Helv. Chim. Acta, 40, 1886 (1975).
- (15) S. GONZALEZ GARCIA, J. NICLOS GUTIERREZ y J.M. GONZALEZ PEREZ, XVIII Reunión Bienal Real Soc. Esp. Fis. Quím. (Simp. Quím. Coord.), Comunic. Científ. M22.4, Burgos, 1980.
- (16) S. GONZALEZ GARCIA, J. NICLOS GUTIERREZ y J.M. GONZALEZ PEREZ, Tesina de Licenciatura (J.M. G.P.) Fac. Farmacia (Dep. Quím. Inorg.), Univ. Granada, Granada 1980.
- (17) S. GONZALEZ GARCIA, J.M. GONZALEZ PEREZ y J. NICLOS GUTIERREZ, XIX Reunión Bienal Real Soc. Esp. Quím. (Simp. Quím. Coord.), Com. Científ. GI6.45, Santander, 1983.
- (18) N. LINNET, "pH Measurements in theory and practice", Radiometer A/S Denmark, 1970.
- (19) H.M.N.H. IRVING y J.R.R.R. DA SILVA, J. Chem. Soc., 448 (1963).
- (20) M.T. FERNANDEZ MARTINEZ, S. GONZALEZ GARCIA, J. NICLOS GUTIERREZ y J.M. GONZALEZ PEREZ, "Aproximación al cálculo de las constantes de disociación de

ácidos aminotricarboxílicos: determinación de los valores de pK_a del ácido nitrilotripropiónico (NTP)", *Ars Pharmaceutica*, 27, 455 (1986).

- (21) W.P. WENTHER, "Chemical Equilibrium", Plenum Press, New York, 1975.
- (22) A. ALBERT y E.P. SERJEANT, "The determination of ionization constants", 2.ª Ed., Chapman and Hall, London, 1971.
- (23) P. JOSEPH-NATHAN y E. DIAZ TORRES, "Introducción a la resonancia magnética nuclear", Limusa-Wiley, México, 1970, pp. 50-53.
- (24) D. CHAPMAN, D.R. LLOYD y R.H. PRINCE, *Proc. Chem. Soc.*, 336 (1962) y *J. Chem. Soc.*, 3645 (1963).