

DEPARTAMENTO DE QUIMICA INORGANICA  
UNIVERSIDAD DE GRANADA

EL ACIDO N,N'-BIS(CARBOXIMETIL)-meso-DJENKOLICO: N DIAMINO-ACIDO CON AZUFRE TIOETER Y POTENCIAL DE QUELACION DINUCLEANTE.(\*)

De la Cueva Torregrosa, I.; Abarca García, M.E.; González Pérez, J.M.; González García, S. y Niclos Gutiérrez, J.

RESUMEN

El ácido N,N' -bis (carboximetil)-meso-djenkólico  $\text{CH}_2[\text{SCH}_2\text{CH}(\text{COO})\text{NH}_2(\text{COOH})]_2$  monohidrato ( $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ) y su clorhidrato ( $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{HCL}$ ) se aíslan con bajo rendimiento ( $\leq 5\%$ ) de la condensación entre mesodjenkolato y bromoacetato potásicos por cambio cationico con Amberlita IR-120(H). Datos potenciométricos de  $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{HCL}+\text{HCL}$  tratados por el programa SUPERQUAD conducen a  $\log\beta_{11} = 8.90$ ,  $\log\beta_{12} = 17.09$ ,  $\log\beta_{13} = 12.57$  y  $\log\beta_{14} = 21.45$  para  $I = 0.1\text{M}$  ( $\text{KNO}_3$ ) y  $298\text{K}$ . Los grupos formalmente equivalentes de  $\text{H}_4\text{L}$  se disocian como poco ( $\text{pK}_4 - \text{pK}_3 = 0.71$ ) o nada ( $\text{pK}_2 - \text{pK}_1 = 0.60$ ) interactuantes. Los espectros  $^1\text{H}\cdot\text{RMN}$  confirman el esqueleto molecular de los productos obtenidos que, en estado sólido, se caracterizan por sus espectros IR y por TG-ATD.  $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{H}_2\text{O}$  pierde agua entre  $60$  y  $150^\circ\text{C}$ .

SUMMARY

N,N'-bis(carboxymethyl)-meso-djenkolic acid,  $\text{CH}_2[\text{SCH}_2\text{CH}(\text{COO})\text{NH}_2(\text{COOH})]_2$ , monohydrate ( $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ) and its monohydrochloride ( $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{HCL}$ ) were obtained from the reaction between meso-djenkolate and bromoacetate (molar ratio 1:2) by cation change with Amberlite IR-120 (H). Yield was very low ( $\leq 5\%$ ). Potentiometric data of mixed  $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{HCL}+\text{HCL}$  solutions treated by SUPERQUAD program give  $\log\beta_{11} = 8.90$ ,  $\log\beta_{12} = 17.09$ ,  $\log\beta_{13} = 12.57$  and  $\log\beta_{14} = 21.45$  at  $298\text{K}$ .

(\*)Nota de la Redacción: El presente trabajo, aparecido en el tomo XXXII de nuestra revista, contenía numerosas erratas que, en parte, afectaban a las fórmulas. En vez de publicar una «Fe de Erratas» que resultaría farragosa hemos preferido reproducirlo, debidamente corregido.

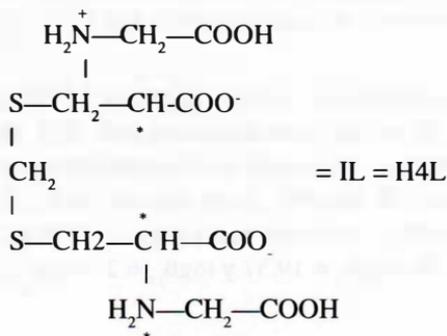
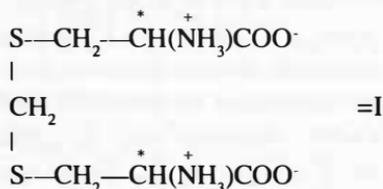
Así queda salvada la seriedad de ARS PHARMACEUTICA, al tiempo que esperamos haber complacido a los Autores.

*Ars Pharmaceutica*. Tomo XXXIV, Núm. 1. 1993, 15-20.

and  $I=0.1M$  ( $KNO_3$ ). The macrodissociation of the formally equivalent groups of  $H_4L$  occur as weakly ( $pK_4-pK_3 = 0.71$ ) or non ( $pK_2-pK_1 = 0.60$ ) interacting ones.  $^1H$ -RMN, IR spectra and TG-DTA data of ( $H_4L.H_2O$ ) and  $H_4L.HCl$  are discussed.

## INTRODUCCION

El ácido meso-djenkólico o S,S'-metileno-bis(cisteína) (I) es un aminoácido natural con azufre tioéter que ha sido investigado en sus propiedades ácidas (1) y en su capacidad de complejación frente a  $Hg(II)$  (2) y cationes divalentes de Co, Ni, Zn(3), Cu(4) y de Eu(III) (5). Se conoce la estructura cristalina del clorhidrato de (I) (6). Nuestros intentos por obtener cristales únicos de su sal de Cu(II) han sido infructuosos por su marcada insolubilidad y por la imposibilidad de recristalización en agua y otros disolventes. Sobre esta base, consideramos de interés la preparación de su N,N'-bis-(carboximetil)-derivado(II), del que no hemos encontrado referencias, como un diaminoácido con azufre tioéter con potencial de quelación dinucleante para cobre(II) y otros cationes metálicos.



## MATERIAL Y METODOS

Síntesis del ácido N,N'-bis (carboximetil)-meso-djenkólico monohidratado ( $H_4L.H_2O$ ) y de su monoclorhidrato ( $H_4L.HCl$ ): Se neutralizan 5.56g (40 mmol) de  $BrCH_2CO_2H$  en 100 ml de agua con 2.25g (40 mmol) de KOH en 100 ml de agua, manteniendo la mezcla con agitación en baño de hielo-sal y atmósfera inerte de  $N_2$ .

Aparte, se disuelven 5.09g (20 mmol) de ácido meso-djenkólico (I, Sigma) en 100 ml de agua fría conteniendo 5.61g (100 mmol) de KOH. La disolución así obtenida se adiciona a la anterior. Esta mezcla de reacción se prepara con agua desionizada exenta de gases y se deja reaccionar en matraz cerrado, al abrigo de la luz y a temperatura ambiente durante 15 días. Se ajusta el pH a 6-7, con HCl 6N, se concentra a presión reducida hasta 50 ml y se enfría en baño de hielo-sal, donde precipita KCl (subproducto) que se retira por filtración. En estas condiciones se produce la lenta separación de un polvo blanco que se filtra y, por su espectro IR y análisis elemental se identifica después como diaminoácido precursor I. La disolución restante se pasa por Amberlita IR-120 (H), en forma ácida, eluyendo con agua. La fracción ácida con reacción de cloruros positiva (y test de complejación NeT negativo) y la fracción con cloruro negativo y test de complejación positivo, ambas de unos 600m

obtienen en nevera cristales de KCl (que se filtran) y precipitado microcristalino (acicular) de  $H_4L.HCl$  (rendimiento~3%). De la disolución exenta de cloruro se aisló  $H_4L.H_2O$  como polvo blanco microcristalino (rendimiento~2%). Ambos productos se recrystalizaron en agua desionizada y se secaron al aire. Calculado para  $H_4L.HCl$  ( $C_{11}H_{19}N_2O_8S_2Cl$ ; PM=406.86): C 32.47, H 4.71, N 6.89; experimental, C 32.10, H 4.72, N 6.94. Calculado para  $H_4L.H_2O$  ( $C_{11}H_{20}N_2O_9S_2$ ; PM= 388.42): C 34.02, H 5.19, N 7.21; encontrado C 33.74, H 5.02, N 7.09. Pierde agua entre 60 y 150°C.

La determinación de las constantes de acidez se hizo con 160 datos ( $2.47 \leq pH \leq 10.99$ ) de dos valoraciones potenciométricas de  $H_4L.HCl$  1.23 y  $1.03 \times 10^{-3} M$  adicionadas de HCl ( $V_1 = 50ml$ ) frente a KOH 0.1M (titulada y exenta de  $CO_2$ ) usando el programa SUPERQUAD (7) contemplando las recomendaciones que propone la IUPAC (8).

La fuerza iónica se ajustó a 0.1M( $KNO_3$ ). Las disoluciones se prepararon con agua exenta de gases y las valoraciones se hicieron con atmósfera de  $N_2$  y  $t = 25.00 \pm 0.05^\circ C$ . Equipo valorador Metrohm Dosimat/665 con pH-metro Crison/2002 y electrodo combinado Inglood.

Los espectros IR se registraron con un espectrómetro Beckman IR 4260 por la técnica del comprimido (KBr). Los espectros 1HRMN se registraron en un equipo Bruker modelo AM300 (300MHz) en  $D_2O$  y en  $d_6$ -DMSO. Las curvas de TG-ATD se obtuvieron en atmósfera de aire, con 4-5 mg de muestra en un equipo par Análisis Térmico Rigaku, serie Thermoflex, con velocidad de calentamiento de 4°C/minuto.

## RESULTADOS Y DISCUSION

El espectro  $^1H$ -RMN de  $H_4L.HCl$  en  $D_2O$  (figura 1) muestra las señales que por su desplazamiento químico, multiplicidad e integración se asignan a los hidrógenos

no intercambiables del esqueleto molecular del ácido N,N'-bis (carboximetil)-meso-djenkólico:

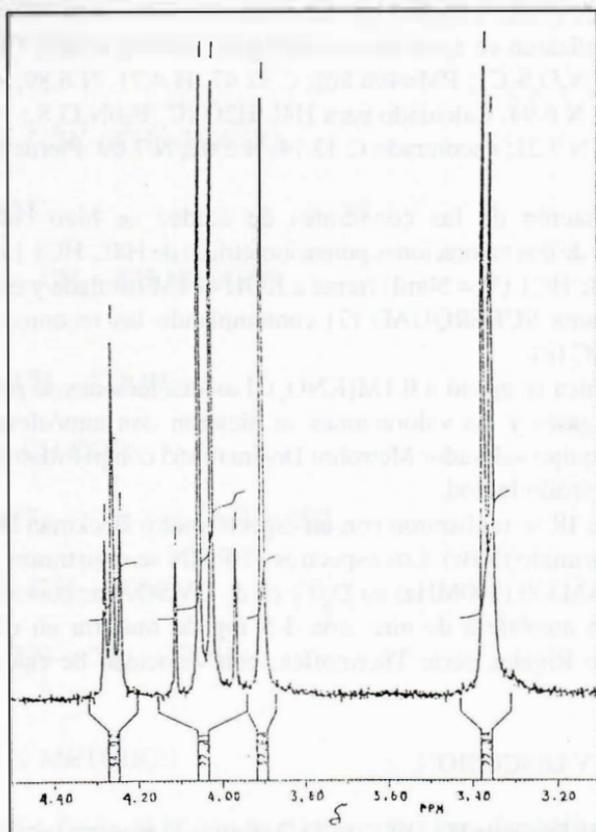
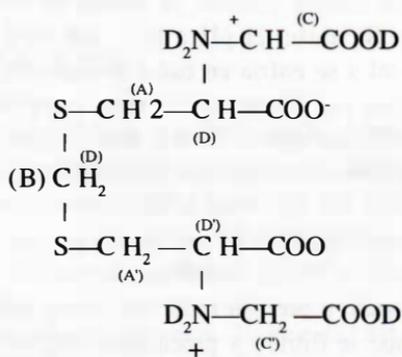


Figura 1. Espectro 1H-RMN de H<sub>4</sub>L.HCl en D<sub>2</sub>O.

**TABLA I. Datos de los espectros 1H-RMN del ácido N, N'-bis (carboximetil)-meso-djenkólico (H4L. H2) y su clorhidrato (H4L.HCl)\***

DISOLVENTE	SEÑAL	MULTIPLICIDAD	DESPLAZAMIENTO QIMICO (δ, ppm)	CONSTANTE DE ACOPLAMIENTO (J, Hz)	INTEGRACION (n° H)	ASIGNACION
D <sub>2</sub> O	A	Doblete	3.37 (3.37)*	J = 5.5	4H	S—CH <sub>2</sub> —C
	B	Singulete	3.92 (3.90)	—	2H	S—CH <sub>2</sub> —S
	Cα	Doblete	3.90 (3.98)	J <sub>1</sub> = 16.8,	2H	N—CH <sub>2</sub> —C
	C' β	Doblete	3.98 (4.08)	J <sub>1</sub> = 16.1,	2H	N'—CH <sub>2</sub> —C
	D	Triplete	4.15 (4.27)	J = 5.5	2H	C' H y C'' H
d <sub>6</sub> —DMSO	—	Multiplete	2.5	—	—	Disolvente
	Aα	Doble doblete	2.83	J <sub>1</sub> = 6.68, J <sub>2</sub> = 13.78	2	S—CH <sub>2</sub> —C
	A'β	Doble doblete	2.98	—	2	S—C'H <sub>2</sub> —C
	C	Singulete	3.37	J1 = 5.34, J2 = 13.73	4	2(N—CH <sub>2</sub> —C)
	D	Triplete**	3.55	—	2	C' H y C'' H
	B	Singulete	3.86	J~6	2	S—CH <sub>2</sub> —S
	E	Señal ensanchada	~5	—	13	6H intercambiables = 3.5 H <sub>2</sub> O

\* Posición de las señales en el espectro de H<sub>4</sub>L. HCL.

\*\*Dos tripletes casi superpuestos.

La Tabla I muestra los datos obtenidos del citado espectro (entre paréntesis) en comparación con los que resultan en los espectros de  $H_4L.H_2O$  en  $D_2O$  y en  $d_6$ -DMSO. Las diferencias en  $\delta$  registradas para el ácido y su clorhidrato en el mismo disolvente ( $D_2O$ ) se explican por el distinto grado medio de protonación del anión  $L^4-$  en estas disoluciones. Los grupos  $N-CH_2-C$  y  $S-CH_2-C$  deberían mostrarse proquirales, pero sólo se muestran como tales en  $D_2O$  y en  $d_6$ -DMSO, respectivamente. El corrimiento general de las señales al cambiar el disolvente  $D_2O$  por el  $d_6$ -DMSO, hacia campos más altos, debe atribuirse a la magnitud de las interacciones soluto-disolvente en cada caso. De esta tendencia se desvía el grupo  $CH_2$  «visagra»,  $S-CH_2-S$ , con la consiguiente alteración del orden de las señales en los espectros (ABCD en  $D_2O$ , ACDBE en  $d_6$ -DMSO).

Las señales de los grupos  $N-CH_2-C$  demuestran la  $N,N'$ -bis(carboximetilación) pretendida en el ácido djenkólico.

El comportamiento potenciométrico de  $H_4L$  (figura 2) es el esperado para un diaminoácido tetracarboxílico con la estructura doblemente zwitteriónica, como la indicada con anterioridad (II).

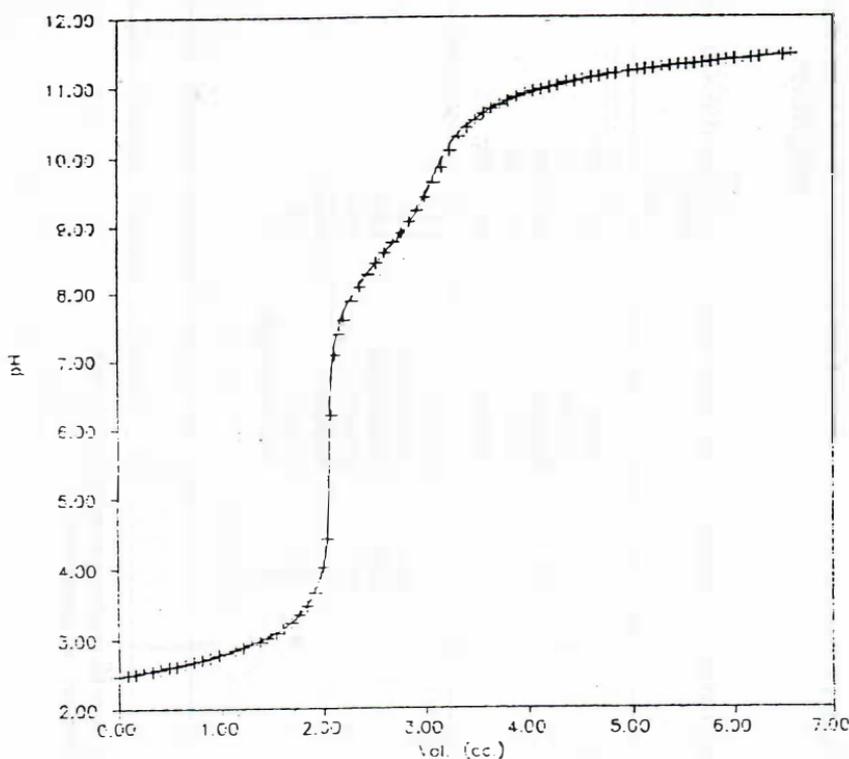


Figura 2. Valoración potenciométrica de  $H_4L.HCl$  ( $1.23 \times 10^{-3}M$ ) frente a  $KOH$  ( $0.1M$ ). (+) Datos experimentales (-) Curva simulada con los  $pK_a$  obtenidos.

do, ya que con el uso del programa SUPERQUAD sólo resultan los valores  $\log\beta_{14}=21.45$  (6),  $\log\beta_{13}=19.57$  (9),  $\log\beta_{12}=17.09$  (3) y  $\log\beta_{11}=8.90$  (2), que se corresponden con  $pK_1=1.88$ ,  $pK_2=2.48$ ,  $pK_3=8.19$  y  $pK_4=8.90$  en términos de  $pK_a$  convencionales. El diagrama de las sucesivas disociaciones de H<sub>4</sub>L (figura 3) muestra por separado el solapamiento de las dos primeras y dos últimas etapas:

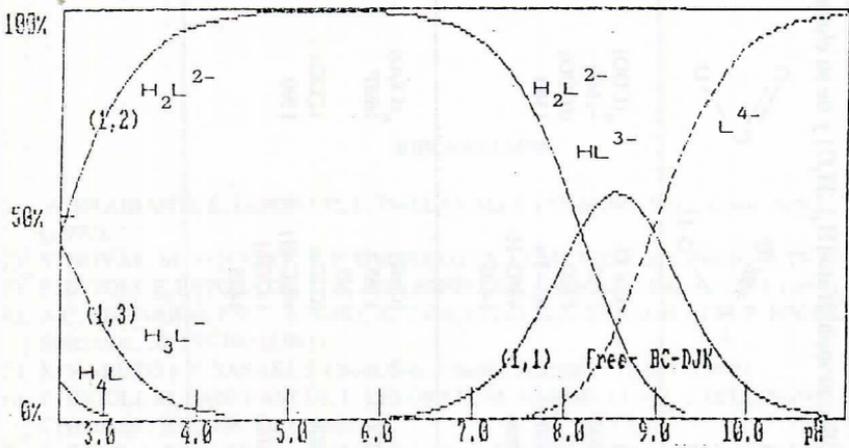
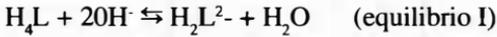
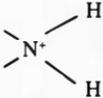
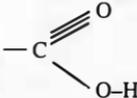


Figura 3. Diagrama del % de formación de las especies  $H_1L^{(4-i)}$  de  $H_4L$  ( $0 \leq i \leq 4$ ).

El valor de  $\Delta pK_a$  para los equilibrios I y II es 0.60 y 0.71, respectivamente. Dado el esqueleto molecular de  $H_4L$ , estas magnitudes indican que las dos primeras y dos últimas disociaciones, debidas a grupos formalmente equivalentes, son nada o poco interactuantes{1}. Los valores de  $pK_3$  y  $pK_4$  obtenidos para  $H_4L$  son muy similares a los datos de  $pK_a$  aportados por LEPORATI y cols.(1) para el diaminoácido precursor, ácido djenkólico (8.158 (11) y 8.958 (8) para I = 0.1M (KCl) y 25°C).

La N-N'-bis (carboximetilación) del ácido djenkólico (I) se pone también de manifiesto en el espectro IR de su derivado (II) por la presencia de bandas debidas a los modos  $\nu(O-H)$ ,  $\nu(C=O)$  y  $\nu(C-O) + \delta(O-H)$  de los grupos carboximéticos (ausentes en el espectro del diaminoácido progenitor). Los datos de la Tabla II indican que  $H_4L \cdot H_2O$  debe contener  $H_4L$  en forma doblemente zwitteriónica estabilizada por abundantes enlaces de hidrógeno, mientras que  $H_4L \cdot HC_1$  debe formularse como  $H_5L^+Cl^-$ , donde  $H_5L^+$  es un zwitterion simple con marcada interacción  $-COO^- \dots H_2N < \dots$

TABLA II. Frecuencias ( $\text{cm}^{-1}$ ) de las absorciones características y asignaciones a modos vibracionales en los espectros IR del ácido N, n'-bis (carboximetil)-meso-djenkólico monohidrato ( $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ) y de su clorhidrato  $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{HCl}$ .

COMPUESTO	-COOH	$\text{H}_2\text{O}$				C-S	INTERPRETACION
$\text{H}_4\text{L}\cdot\text{H}_2\text{O}$	(O-H) ~3500(h)	(O-H) ~3400 $\delta(\text{H}_2\text{O})$ ~1630(h)	$\text{as}(\text{NH}_2)$ 2800-2200 (picos a 2759,2650 y otros mas débiles	(C=O) 1735 1720 (C-O)+ + $\delta(\text{O-H})$ 1420	$\text{as}(\text{COO})$ ~1600 $\text{s}(\text{COO})$ 1380	(C-S) 630 610	$\left[ \begin{array}{c} \text{CH}_2 \text{ S CH}_2 \text{ CH COO} \\ \text{H}_2\text{N CH}_2 \text{ CO}_2\text{H} \end{array} \right]_2$
$\text{H}_4\text{L}\cdot\text{HCl}$ ( $\text{H}_3\text{L}^+\text{Cl}^-$ )	3400	—	$\text{as}(\text{NH}_2)$ 2800-2200 (picos a 2780-2600 y otros más débiles	(C=O) 1765 1725 (C-O)+ + $\delta(\text{C-H})$ 1420(h) 1415	$\text{as}(\text{COO})$ 1690°  $\text{s}(\text{COO})$ 1390	(C-S) 630?	$\left[ \begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}^+ \text{ CH}_2 \text{ COOH} \\ \text{S CH}_2 \text{ C}_\text{H} \text{ COO} \\ \text{CH}_2 \\ \text{S CH}_2 \text{ C}^* \text{ H COO} \\ \text{H}_2\text{N CH}_2 \text{ COOH} \end{array} \right] \text{Cl}^-$

\* Grupo fuertemente interaccionado con  $\text{NH}_2$

Los resultados de TG-DTA son poco significativos (figura 4). El ácido H4L.H<sub>2</sub>O pierde agua entre 60 y 120°C, aunque el proceso sólo es completo a unos 150°C (calc. 4.64%, exp. 4.75%, efectos endos. a 85 y 150°C), descomponiéndose pirolíticamente en etapas. El clorhidrato H4L.HCl (anhidro) es estable hasta los 160°C iniciando su descomposición y pirólisis (con un efecto endo. a 225°C) que es prácticamente completa a los 550°C.

#### BIBLIOGRAFIA

- (1) .A. BRAIBANTI, E. LEPORATI, F. DALLAVALLE y G. MORI, *Inorg. Chim. Acta*, 6, 395-400 (1.972).
- (2) V. NOVAK, M. SVICEKOVA, E. DVORAKOVA y J. MAJER, *Chem. Zvesti*, 34, 73-77 (1.980).
- (3) F. BIGOLI, E. LEPORATI y M.A. PELLIGHELLI, *J. Chem. Soc., Dalton*, 1.961-1.964 (1.981).
- (4) A.C. MASSABNI, J.M.C. BUENO, A. TANCREDO, H.A. FARACH y CH. P. POOLE, *Can. J. Spectrosc.*, 26, 186-190 (1.981).
- (5) K. KABUTO y Y. SASAKI, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, 670-671 (1.987).
- (6) F. BIGOLI, M. LANFRANCHI, E. LEPORATI, M. NARDELLI y M.A. PELLINGHELLI, *Acta Crystallogr.*, B38, 498-502 (1.982).
- (7) P. GANS, A. SABATINI y A. VACCA, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 1195-1200 (1.985).
- (8) A) Commission on Equilibrium Data, *Anal. Chem. Div. IUPAC, Pure Appl. Chem.*, 59, 1721-1728 (1.987).  
B) D.G. TUCK, *Pure Appl. Chem.*, 61, 1161-1163 (1.989).