

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 $I = 0.1\text{M}$ (KNO_3) y 298K . Los grupos formalmente equivalentes de H_4L 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°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 298K .

(*)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.

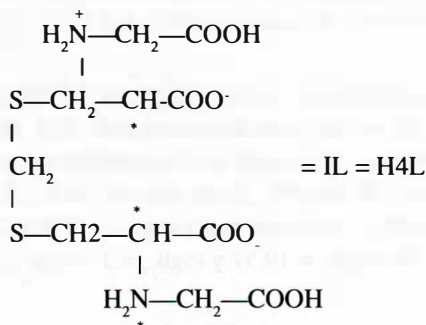
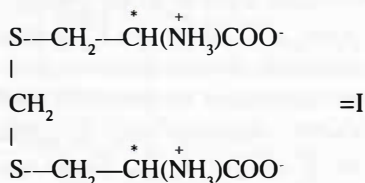
Así queda salvada la seriedad de ARS PHARMACEUTICA, al tiempo que esperamos haber complacido a los Autores.

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:

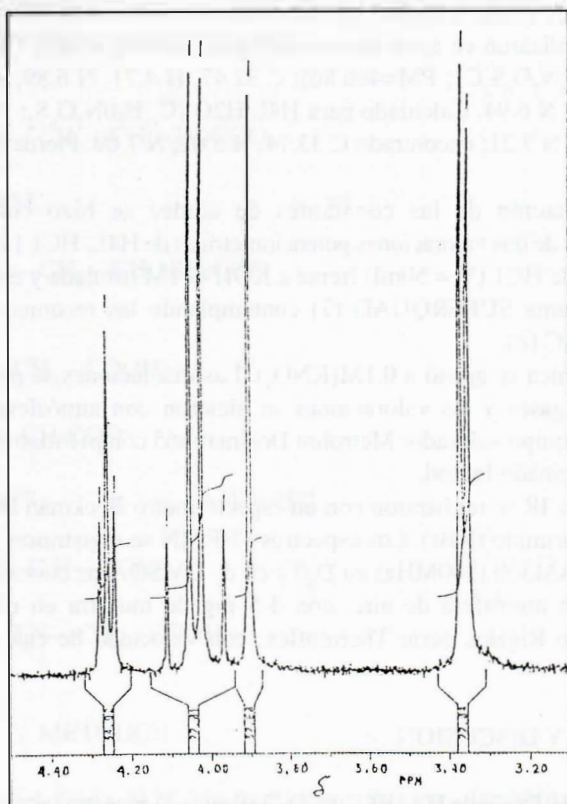
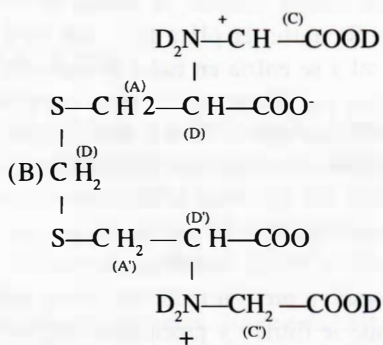


Figura 1. Espectro 1H-RMN de H₄L.HCl en D₂O.

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 ₂ O	A	Doblete	3.37 (3.37)*	J = 5.5	4H	S—CH ₂ —C
	B	Singulete	3.92 (3.90)	—	2H	S—CH ₂ —S
	Cα	Doblete	3.90 (3.98)	J ₁ = 16.8,	2H	N—CH ₂ —C
	C' β	Doblete	3.98 (4.08)	J ₁ = 16.1,	2H	N'—CH ₂ —C
	D	Triplete	4.15 (4.27)	J = 5.5	2H	C' H y C'' H
d ₆ —DMSO	—	Multiplete	2.5	—	—	Disolvente
	Aα	Doble doblete	2.83	J ₁ = 6.68, J ₂ = 13.78	2	S—CH ₂ —C
	A'β	Doble doblete	2.98	—	2	S—C'H ₂ —C
	C	Singulete	3.37	J1 = 5.34, J2 = 13.73	4	2(N—CH ₂ —C)
	D	Triplete**	3.55	—	2	C' H y C'' H
	B	Singulete	3.86	J~6	2	S—CH ₂ —S
	E	Señal ensanchada	~5	—	13	6H intercambiables = 3.5 H ₂ O

* Posición de las señales en el espectro de H₄L. 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 δ 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).

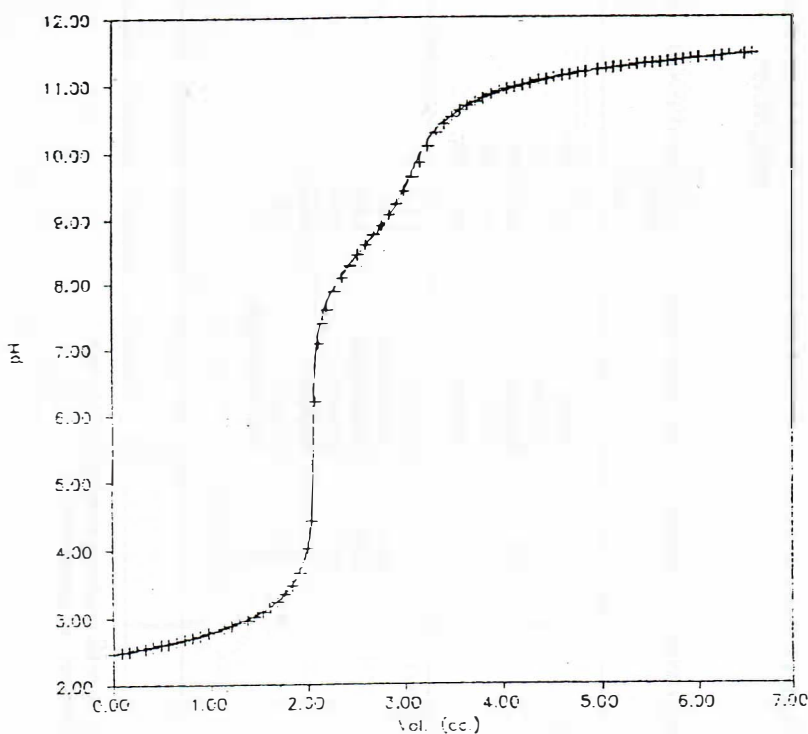


Figura 2. Valoración potenciométrica de $H_4L.HCl$ ($1.23 \times 10^{-3}M$) frente a KOH ($0.1M$). (+) Datos experimentales (-) Curva simulada con los pK_a obtenidos.

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 H₄L (figura 3) muestra por separado el solapamiento de las dos primeras y dos últimas etapas:

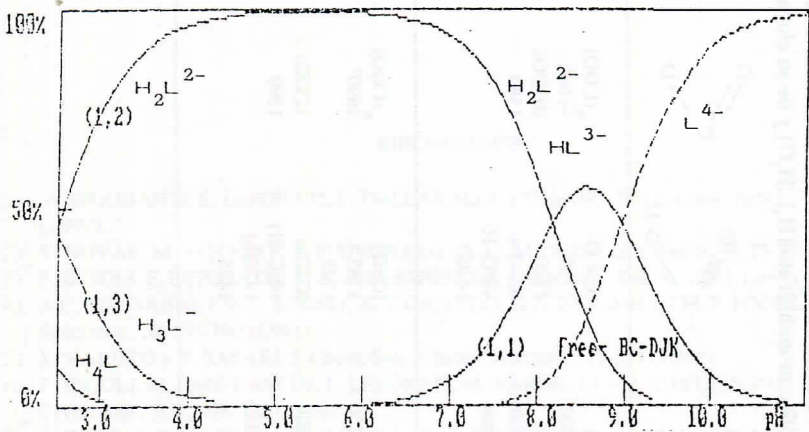
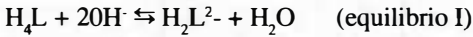
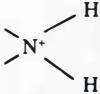
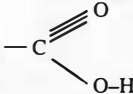



Figura 3. Diagrama del % de formación de las especies $H_1L^{(4-i)}$ de H_4L ($0 \leq i \leq 4$).

El valor de ΔpK_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 $H_4L.H_2O$ debe contener H_4L en forma doblemente zwitteriónica estabilizada por abundantes enlaces de hidrógeno, mientras que $H_4L.HCl$ debe formularse como $H_5L^+Cl^-$, donde H_5L^+ es un zwitterion simple con marcada interacción $-COO^- \dots H_2N <..$

TABLA II. Frecuencias (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	H_2O				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)	^{as,s} (NH_2) 2800-2200 (picos a 2759,2650 y otros mas débiles	(C=O) 1735 1720 (C-O)+ + $\delta(\text{O-H})$ 1420	^{as} (COO) ~1600 s(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	—	^{as,s} (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	^{as} (COO) 1690° _s (COO) 1390	(C-S) 630?	$\left[\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}^+ \text{ CH}_2 \text{ COOH} \\ \text{S CH}_2 \text{ C}_*\text{H COO} \\ \text{CH}_2 \\ \text{S CH}_2 \text{ C}^* \text{H COO} \\ \text{H}_2\text{N CH}_2 \text{ COOH} \end{array} \right] \text{Cl}^-$

* Grupo fuertemente interaccionado con NH_2

Los resultados de TG-DTA son poco significativos (figura 4). El ácido H4L.H₂O 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).