

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA INORGÁNICA.  
UNIVERSIDAD DE GRANADA

EL ÁCIDO N,N' -BIS (CARBOXIMETIL) -MESO- DJENKÓLICO:  
CN DIAMINOÁCIDO CON AZUFRE TIOETER Y POTENCIAL DE  
QUELACIÓN DINUCLEANTE.

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

RESUMEN

El ácido N, N'-bis (carboximetil)-meso-djenkólico  $\text{CH}_2 [\text{SCH}_2\text{CH} (\text{COO}^-)\text{NH}_2 (\text{CH}_2\text{COOH})]_2$  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 catiónico 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 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  $^1\text{H}$ -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.

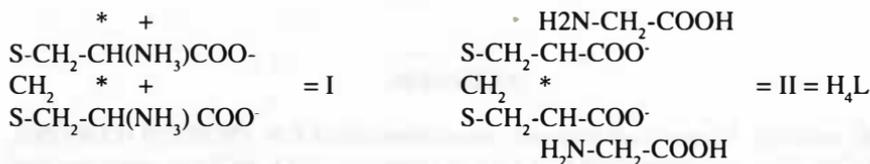
SUMMARY

N,N'-bis (carboxymethyl)-mexo-djenkolic acid,  $\text{CH}_2 [\text{SCH}_2\text{CH} (\text{COO}^-) \text{NH}_2 (\text{CH}_2\text{COOH})]_2$ , 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 K and  $I = 0.1\text{M}$  ( $\text{KNO}_3$ ). The macrodissociation of the formally equivalent groups of  $\text{H}_4\text{L}$  occur as weakly ( $\text{pK}_4 - \text{pK}_3 = 0.71$ ) or non ( $\text{pK}_2 - \text{pK}_1 = 0.60$ ) interacting ones.  $^1\text{H}$ -RMN, IR spectra and TG-DTA data of  $\text{H}_4\text{L} \cdot \text{H}_2\text{O}$  and  $\text{H}_4\text{L} \cdot \text{HCl}$  are discussed.

INTRODUCCIÓN

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 MÉTODOS

Síntesis del ácido N,N'-bis(carboximetil)-meso-djendólico monohidratado ( $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ) y de su monoclóridato ( $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{HCl}$ ): se neutralizan 5.56 g. (40 mmol) de  $\text{BrCH}_2\text{CO}_2\text{H}$  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  $\text{N}_2$ . Aparte, se disuelven 5.09 g (20 mmol) de ácido meso-djenkólico (I, Sigma) en 100 ml de agua fría conteniendo 5.61 g (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 la temperatura ambiente durante 15 días. Se ajusta el pH a 6-7, con HCl 6 N, 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 diamonoácido precursor I. La disolución se pasa por Amberlita IR-120 (H), en forma ácida, diluyendo 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 600 ml, se concentran por separado a presión reducida. De la primera se obtienen en nevera cristales de KCl (que se filtran) y precipitado microcristalino (acicular) de  $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{ClH}$  (rendimiento  $\approx 3\%$ ). De la disolución exenta de cloruro de aisló  $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{H}_2\text{O}$  como polvo blanco microcristalino (rendimiento  $\approx 2\%$ ). Ambos productos se recristalizaron en agua desionizada y se secaron al aire. Calculado para  $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{HCl}$  ( $\text{C}_{11}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_8\text{S}_2\text{Cl}$ ; PM = 406.86): C 32.47, H 4.71, N 6.89; experimental, C 32.10, H 4.72, N 6.94. Calculado para  $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{H}_2\text{O}$  ( $\text{C}_{11}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_9\text{S}_2$ ; 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 ( $2.47 \leq \text{pH} \leq 10.99$ ) de dos valoraciones potenciométricas de  $\text{H}_4\text{L} \cdot \text{HCl}$   $1.23$  y  $1.03 \times 10^{-3} \text{M}$  adicionadas de  $\text{HCl}$  ( $V_1 = 50 \text{ ml}$ ) frente a  $\text{KOH}$   $0.1 \text{ M}$  (titulada y exenta de  $\text{CO}_2$ ) usando el programa SUPERQUAD (7) contemplando las recomendaciones que propone la IUPAC (8). La fuerza iónica se ajustó a  $0.1 \text{ M}$  ( $\text{KNO}_3$ ). Las disoluciones se prepararon con agua exenta de gases y las valoraciones se hicieron con atmósfera de  $\text{N}_2$  y  $t = 25.00 \pm 0.05^\circ\text{C}$ . Equipo valorador Metrohm Dosimat/665 con pH-metro Criston/2002 y electrodo combinado Ingold. Los espectros IR se registraron con un espectrómetro Beckman IR 4260 por la técnica del comprimido (KBr). Los espectros  $^1\text{H}$ -RMN se registraron en un equipo Bruker modelo AM300 (300MHz) en  $\text{D}_2\text{O}$  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 para Análisis Térmico Rigaku, Serie Thermoflex, con velocidad de calentamiento de  $4^\circ \text{C}/\text{minuto}$ .

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El espectro  $^1\text{H}$ -RMN de  $\text{H}_4\text{L} \cdot \text{HCl}$  en  $\text{D}_2\text{O}$  (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  $\text{N,N}'$ -bis(carboximetil)-meso-djenkólico:

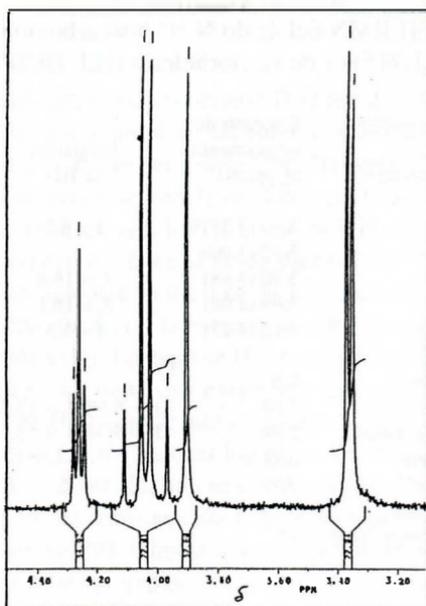
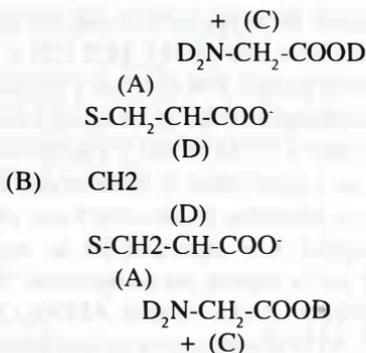


Figura 1.- Espectro  $^1\text{H}$ -RMN de  $\text{H}_4\text{L} \cdot \text{HCl}$  en  $\text{D}_2\text{O}$ .



La Tabla I muestra los datos obtenidos del citado espectro (entre paréntesis) en comparación con los que resultan en los espectros de  $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{H}_2\text{O}$  en  $\text{D}_2\text{O}$  y en  $d_6\text{-DMSO}$ . Las diferencias en  $\zeta$  registradas para el ácido y su clorhidrato en el mismo disolvente ( $\text{D}_2\text{O}$ ) se explican por el distinto grado medio de protonación del anión  $\text{L}^4$  en estas disoluciones. Los grupos  $\text{N-CH}_2\text{-C}$  y  $\text{S-CH}_2\text{-C}$  deberían mostrarse proquirales, pero sólo se muestran como tales en  $\text{D}_2\text{O}$  y en  $d_6\text{-DMSO}$ , respectivamente. El corrimiento

TABLA I

Datos de los espectros  $^1\text{H-RMN}$  del ácido  $\text{N,N}'\text{-bis(carboximetil)-meso-djenkólico}$  ( $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{H}_2\text{O}$ ) y de su clorhidrato ( $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{HCl}$ )\*.

Disolvente	Señal	Desplazamiento químico Multiplicidad	Constante de acoplamiento ( $\zeta$ , ppm)	Integración (J, Hz)	(n° H)	Asignación
$\text{D}_2\text{O}$	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
	C $\alpha$	Doblete	3.90 (3.98)	J <sub>1</sub> = 16.8	2H	N-CH <sub>2</sub> -C
	C $\beta$	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
$d_6\text{-DMSO}$	-	Multiplete	2.5	-	-	Disolvente
	A $\alpha$	Doble doblete	2.83	J <sub>1</sub> = 6.68, J <sub>2</sub> = 13.78	2	S-CH <sub>2</sub> -C
	A $\beta$	Doblete doblete	2.98	J <sub>1</sub> = 5.34, J <sub>2</sub> = 13.73	2	S-C'H <sub>2</sub> -C
	C	Singulete	3.37	-	4	2(N-CH <sub>2</sub> -C)
	D	Triplete**	3.55	J=6	2	C-H y C'-H
	B	Singulete	3.86	-	2	S-CH <sub>2</sub> -S
	E	Señal ensanchada	$\approx 5$	-	3	6Hinter-cambiables = 3.5 H <sub>2</sub> O

\* Posición de las señales en el espectro de  $\text{H}_4\text{L}\cdot\text{HCl}$

\*\* Dos tripletes casi superpuestos

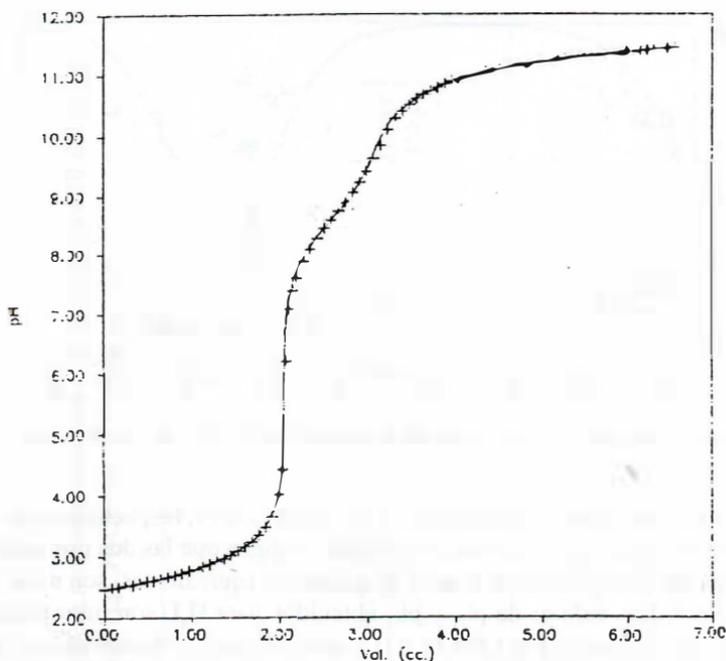
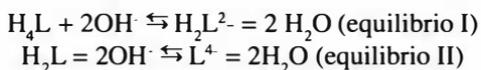


Figura 2.- Valoración potenciométrica de  $H_4L.HCl$  ( $1.23 \times 10^{-3}$ ) frente a  $KOH$  (0.1M). (+) Datos experimentales (-) Curva simulada con los  $pK$  obtenidos.

general de las señales al cambiar el disolvente  $D_2O$  por  $d_6$ -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). La especie  $H_5L^+$  del mono-clorhidrato (y más aún la hipotética especie  $H_6L^{2+}$ ) no tiene una existencia apreciable en las disoluciones de  $H_4L.HCl$  adicionadas de  $HCl$ , que se han ensayado, 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  $H_4L$  (figura 3) muestra por separado el solapamiento de las dos primeras y dos últimas etapas:



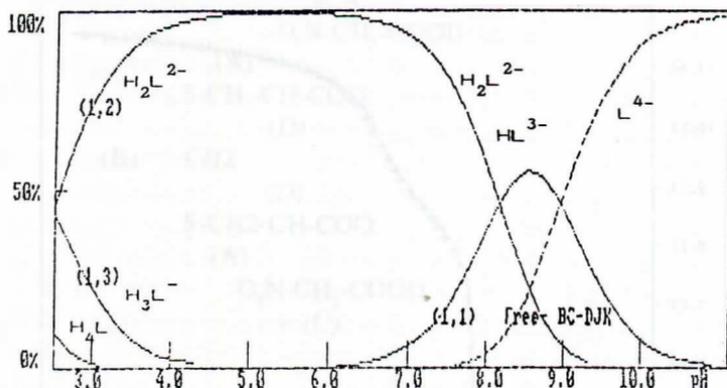


Figura 3.- Diagrama del % de formación de las especies  $H_4L$  (4-i) de  $H_4L$  ( $0 \leq i \leq 4$ ).

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\*. 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  $\mu(O-H)$ ,  $\mu(C=O)$  y  $\mu(C-O) + \zeta(O-H)$  de los grupos carboximetílicos (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  $H_4L \cdot HCl$  debe formularse como  $H_3L^+ Cl^-$ , donde  $H_3L^+$  es un zwitterion simple con marcada interacción  $-COO \dots H_2N <$

Los resultados de TG-DTA son poco significativos. El ácido  $H_4L \cdot H_2O$  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  $H_4L \cdot HCl$  (anhidro) es estable hasta los 160° C iniciando su descomposición y pirolisis (con un efecto endo. a 225 °C) que es prácticamente completa a los 550° C.

\* Para la disociación de dos grupos equivalentes y no interactuantes se deduce  $\Delta pK - pK_2 - pK_1 = 0.60$

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	$\text{H}_2\text{O}$	N	H H	O -C O-H	O -C O-	C-S	INTERPRETACIÓN
$\text{H}_4\text{L}\cdot\text{H}_2\text{O}$	$\zeta(\text{O-H})$ $\approx 3500$ (h)	$\mu(\text{O-H})$ $\approx 3.400$ $\zeta(\text{H}_2\text{O})$ $\approx 1630$ (h)	$\mu_{\text{as,s}}(\text{NH}_2)$ 2.800-2.200 (picos a $\mu(\text{C-O})+$ y otros más débiles)		$\mu(\text{C=O})$ 1735 1.720 1380 $+\zeta(\text{O-H})$ 1420	$\mu_{\text{as}}(\text{COO})$ $\approx 1.600$ $\mu_{\text{s}}(\text{COO})$ 2	$\mu(\text{C-S})$ 630 610	$\text{CH}_2$ $\left[ \begin{array}{l} \text{S-CH}_2\text{-CH-COO}^- \\ \text{H}_2\text{N-CH}_2\text{-CO}_2\text{H} \end{array} \right]$
$\text{H}_4\text{L}\cdot\text{HCl}$ ( $\text{H}_5\text{L}+\text{Cl}^-$ )	3.400	-	$\mu_{\text{as,s}}(\text{NH}_2)$ 2800-2200 (picos a 2780, 2600 y otros más débiles)		$\mu(\text{C=O})$ 1765 1725 $\mu(\text{C-O})+$ $=\zeta(\text{O-H})$ 1420 (h) 1415	$\mu_{\text{as}}(\text{COO})$ 1690* $\mu_{\text{s}}(\text{COO})$ 1390	$\mu(\text{C-S})$ 630(?)	$\left[ \begin{array}{l} \text{H}_2\text{N-CH}_2\text{-COOH} \\ \text{S-CH}_2\text{-CH-COOH} \\ \text{CH}_2 \\ \text{S-CH}_2\text{-CH-COO}^- \\ \text{H}_2\text{N-CH}_2\text{-COOH} \end{array} \right]$ Cl-

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

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) A. BRAIBANTI, E. LEPORATI, F. DALLAVALLE y G. MORI, *Inorg. Chim. Acta*, 6, pp. 395-400 (1972).
- (2) V. NOVAK, M. SVICEKOVA, E. DVORAKOVA y J. MAJER, *Chem. Zvesti*, 34, pp. 73-77 (1980).
- (3) F. BIGOLI, E. LEPORATI y M.A. PELLIGHELLI, *J. Chem. Soc., Dalton*, 1961-1964 (1981).
- (4) A.C. MASSABNI, J.M.C. BUENO, A. TANCREDO, H.A. FARACH y CH. P. POOLE, *Can. J. Spectrosc.*, 26, pp. 186-190 (1981).
- (5) K. KABUTO y Y. SASAKI, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, pp. 670-671 (1987).
- (6) F. BIGOLI, M. LANFRANCHI, E. LEPORATI, M. NARDELLI y M.A. PELLINGHELLI, *Acta Crystallogr.*, b38, pp. 498-502 (1982).
- (7) P. GANS, A. SABATINI y A. VACCA, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, pp. 1195-1200 (1985).
- (8a) Commission on Equilibrium Data, *Anal. Chem. Div. IUPAC, Pure Appl. Chem.*, 59, pp. 1.721-1.728 (1987).
- b) D.G. TUCK, *Pure Appl. Chem.*, 61, pp. 1.161-1.163 (1989).