

DEPARTAMENTO DE QUIMICA INORGANICA FARMACEUTICA

Prof. Dr. S. GONZÁLEZ GARCÍA

APORTACIONES A LA SINTESIS DE TRES ANALOGOS
DEL ACIDO NITRILOTRIACETICO DERIVADOS
DE ALANINAS

por

S. GONZÁLEZ GARCÍA * y J. NICLOS GUTIÉRREZ *

RESUMEN

Se aislan y estudian los factores relativos a la preparación de los ácidos D, L- α -alanin-N,N-bis(carboximetil), 2-metil- α -alanin-N,N-bis(carboximetil) y β -alanin-N,N-bis(carboximetil) por condensación de cloroacetato con la correspondiente alanina, en medio alcalino. Los rendimientos, comparables con los anteriormente publicados, se explican en base a dificultades en la condensación y a diferencias observadas en la solubilidad de estos productos. Asimismo, se aporta por primera vez la síntesis de sus clorhidratos y se incluyen diversos datos para la caracterización de los ácidos.

SUMMARY

In this work we have studied and discussed the factors related to the preparation of the acids D, L-alanine-N N-bis(carboxymethyl), 2-methyl- α -alanine-N,N-bis(carboxymethyl) y β -alanine-N,N-bis(carboxymethyl) through condensation of chloroacetate with the corresponding alanine in alkaline medium. Similar yields as published earlier, are discussed and explained on the basis of difficulties in the condensation process and observed differences in the solubility of these products. By first time, the isolation of their hydrochlorides is provided and several data for the characterization of the acids are included.

* Departamento de Química Inorgánica Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Granada.

RESUME

On étudie les facteurs relatifs a la préparation des acides D, L- α -alanine-N,N-bis(carboxyméthyl), β -alanine-N,N-bis(carboxyméthyl) par condensation du chloroacétate, avec la correspondante alanine, dans un milieu alcalin. Les rendiments, comparables á ceux qui ant antérieurement publiés, s'expliquent sur base aux difficultés dans la condensation et par les differences observées dans la solubilité de ces produits. On reporte également pour la première fois la synthèse des chlorhydrates et on inclue des différents détails pour la caractérisation des acides.

INTRODUCCION

La preparación de complexonas sustituidas es objeto de una importante labor investigadora, por su múltiple interés teórico y por sus aplicaciones en Química Analítica, Agricultura, Tecnología Industrial, Quimioterapia y Biología Experimental (1-7). La N-carboximetilación de aminoácidos constituye el procedimiento de elección para obtener derivados C-sustituidos del ácido nitrilotriacético (ANT), contemplado como prototipo. Así, en repetidas ocasiones, se ha descrito la síntesis de los ácidos D, L- α -alanin-N, N-bis(carboximetil) o metilnitrilotriacético (AMNT) (8-17), 2-metil- α -alanin-N,N-bis(carboximetil) o dimetilnitrilotriacético (ADNT) (12, 16, 17) y β -alanin-N,N-bis(carboximetil) o nitrilopropionico-diacético (ANPD) (10, 11, 16-20) por condensación de cloroacetato con la alanina correspondiente, en medio alcalino.

Los procedimientos propuestos para preparar y aislar los ácidos AMNT y ADNT conducen siempre a rendimientos sensiblemente bajos ($\sim 45\%$) respecto a los señalados para el ANPD ($\sim 80\%$). IRVING, SHELTON y EVANS (21) atribuyen al impedimetro estérico y otras dificultades experimentales la imposibilidad de preparar homólogos del ácido etilendiaminotetraacético (AEDT) con grupos $-\text{CH}(\text{CH}_3)-\text{COOH}$ en vez de $-\text{CH}_2\text{COOH}$, u homólogos del ácido etilendiaminotetrapropiónico con radicales $-\text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{COOH}$ en lugar de $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$. La condensación con α -bromopropionato sólo permite la sustitución de un átomo de hidrógeno de cada grupo amino de la etilendiamina. Por otra parte, la consideración de diversos estudios con derivados sustituidos del AEDT induce a pensar que el aislamiento de los ácidos puede afectarse por su solu-

bilidad particular que, en ocasiones, parece relacionada con la simetría de su estructura molecular (16). Estas observaciones podrían extenderse a la preparación y aislamiento de análogos de ANT. Por este y otros motivos, en nuestros laboratorios se han ensayado distintos procedimientos de síntesis de AMNT, ADNT y ANPD. Esta publicación describe los métodos seguidos actualmente con tales fines. Asimismo, se incluye la preparación de los correspondientes clorhidratos, no descrita en la bibliografía, y se aportan nuevos datos de interés para la caracteriza

MATERIALES Y METODOS

A) PREPARACIÓN Y AISLAMIENTO DE LOS ÁCIDOS Y SUS CLORHIDRATOS

Productos

El ácido cloroacético, los aminoácidos D,L- α -alanina, 2-metil- α -alanina y β -alanina, el KOH (exento de CO₂), el reactivo de Karl-Fischer, el BrK para espectroscopía y los disolventes y patrones para las medidas de RMN fueron servidos por E. Merck, Darmstadt; la Amberlita IR-120(H), de The British Droug Houses (Chemical Division), Ltd. Los restantes productos usados fueron de pureza analítica. Para la síntesis de los ácidos es importante que los aminoácidos estén exentos de sales amónicas (12, 16).

Síntesis

*Acido D,L- α -alanin-N,N-bis(carboximetil) (AMNT) ***

Se adicionan 28,5 g (0,3 moles) de ácido cloroacético disueltos en 100 ml de agua, enfriados a 10°C, gota a gota y con agitación, sobre 42 g (0,75 moles) de KOH disueltos en 100 ml de agua en un matraz enfriado en baño de hielo. La temperatura de la mezcla no debe superar los 20°C. Se agregan 9 g (0,1 mol) de D,L- α -alanina suspendidos en 50 ml de agua y se cierra el matraz, dejando reaccionar la mezcla durante un mes a temperatura ambiente. Se acidifica la disolución con CIH 6 N hasta pH 2 y se evapora a sequedad, a presión reducida y 40-45°C, separando por

** Procedimiento modificado del propuesto por IRVING y MILES (12).

filtración todo el ClK que precipita al principio (comprobar la escasa coprecipitación del AMNT llevando una punta de espátula del precipitado sobre la llama de un mechero). El residuo sólido resultante se extrae cuatro veces con porciones de 50 ml de ácido acético glacial hirviente (saturado de acetato potásico). Los extracto reunidos se llevan a sequedad a presión reducida y el residuo blanco viscoso, disuelto en 50 ml de agua, se pasa por una columna de Amberlita IR-120 (H) en su forma ácida, eluyendo con agua desionizada (1-2 gotas/minuto). Periódicamente se investiga por separado en unas gotas del eluido la presencia de cloruros y del agente complejante. El ensayo de complejación es positivo cuando unas gotas del eluido viran a azul el color rojo púrpura de 1 ml de disolución diluida de negro de eriocromo T, tamponada a $\text{pH} = 10$ ($\text{CINH}_4\text{-NH}_3$) y adicionada de la menor cantidad de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$. Desechando los eluidos con cloruro, se concentran hasta 50 ml, a presión reducida, todos los líquidos que dan positivo el ensayo de complejación. Después de frotar las paredes del recipiente con una varilla de vidrio, se deja el concentrado en nevera dos días. La recrystalización del precipitado así obtenido, de su disolución saturada en agua a 70°C , conduce a un polvo blanco, cristalino, que se deseca en corriente de aire y al vacío sobre P_4O_{10} . Rendimiento: 40 %.

*Acido 2-metil- α -alanin-N,N-bis(carboximetil) (ADNT) ****

En un matraz de tres bocas, se neutralizan 28,5 g (0,3 moles) de ácido cloroacético disueltos en 100 ml de agua con 25,3 g (0,3 moles) de NaHCO_3 , adicionados en pequeñas porciones. A parte, se neutralizan 10,3 (0,1 mol) de 2-metil- α -alanina suspendidos en 100 ml de agua con 50 ml de disolución 2N de NaOH . Se transvasa esta disolución al matraz reactor que se equipa con un embudo de carga, tapón con termómetro y refrigerante (protegido del ambiente con un tubo de NaOH-CaCl_2). Se calienta la mezcla (con agitación) en baño de agua a 90°C y se adiciona desde el embudo la cantidad necesaria de NaOH 5 M para mantener el $\text{pH} = 10-12$. Cuando no desciende el pH durante una hora, se enfría y se acidula la disolución con ClH 6 N hasta $\text{pH} = 2$. Se

*** Adaptación del método de IRVING y MILES (12).

concentra a presión reducida hasta 100 ml y se deja reposar en nevera tres o cuatro días. El sólido blanco que precipita se recrystaliza en nevera, varias veces, de su disolución saturada en agua a 60-70° C. La última recrystalización puede inducirse sembrando pequeños cristales de ADNT de un ensayo anterior. El producto final es un sólido blanco, cristalino, que se deseca a vacío sobre P_4O_{10} . Rendimiento: 45 %.

*Acido β -alanin-N,N-bis(carboximetil) (ANPD) *****

Se adicionan 90 g (1 mol) de β -alanina, en pequeñas porciones, sobre 40 g (1 mol) de NaOH disueltos en 300 ml de agua. Se neutralizan, por separado, 190 g (2 moles) de ácido cloroacético disueltos en 80 ml de agua con 168 g (2 moles) de $NaHCO_3$, adicionados poco a poco sin agitación. Se mezclan ambas disoluciones en un matraz de reacción análogo al descrito en el caso anterior y se calienta en baño maría. Cuando se alcanzan los 70° C, se mantiene un pH = 9-10 adicionado sucesivamente hasta 400 ml de NaOH 5 M, prolongando después la calefacción hasta cinco horas. Se enfría a temperatura ambiente y se acidula con ClH concentrado, al tiempo que se frotran las paredes del recipiente con una varilla de vidrio, hasta observar el comienzo de la precipitación de un polvo blanco (pH = 2-2,5). Se deja en reposo seis horas y el precipitado se disuelve en 200 ml de agua con la adición de la menor cantidad de $NaHCO_3$, para recrystalizarlo de nuevo adicionando ClH concentrado como antes. Se completa la precipitación durante varias horas en nevera. Los cristales aciculares de ANPD se separan por filtración y se desecan, primero en corriente de aire y después a vacío sobre P_4O_{10} . Rendimiento: 85 %.

Aislamiento de los clorhidratos

Los clorhidratos de los ácidos AMNT y ANPD pueden aislarse recrystalizando (dos o tres veces) por enfriamiento lento a temperatura ambiente sus disoluciones saturadas en ClH 6 N caliente (80-90° C). El rendimiento es muy variable (40-60 %) (16). Este procedimiento fue propuesto por CHAPMAN, LLOYD y PRINCE (22)

**** Adaptado de los procedimientos propuestos por UEHARA y cols. (19) y PRATT y col. (20).

para aislar los clorhidratos de los ácidos AEDT y ANT, dando éxito en nuestros laboratorios para preparar el diclorhidrato del AEDT (24). Sin embargo, nuestros esfuerzos por obtener el clorhidrato del ANT por este camino (16, 17) han fracasado, al igual que sucedió a NAKAMOTO, MORIMOTO y MARTELL (23), recuperando de nuevo el ácido libre (sólido blanco, cristalino, poco soluble en agua, con curva de neutralización y espectro IR idénticos a los del ANT).

Muy recientemente hemos aislado los clorhidratos de los tres ácidos con un rendimiento del 95-98 por 100 disolviendo 2 g de cada complexona en 4 ml de ClH 6N y evaporando después a sequedad, en una placa Petri, con el calor de una lámpara de desecación (25).

B) ENSAYOS PARA LA CARACTERIZACIÓN DE LOS ÁCIDOS

Determinación del agua: Se ha valorado el contenido en agua de muestras sólidas ($\sim 0,1$ g) de los ácidos AMNT, ADNT y ANPD, desecados a vacío sobre P_4O_{10} , por el método de Karl-Fischer, en un aparato de GRI-CEL con determinación electrométrica del punto final. La desecación completa de los ácidos se logra a $40^\circ C$ y vacío durante 24 horas (26).

Análisis elemental: El contenido de carbono e hidrógeno se determinó con un equipo Hermean-Morris.

Puntos de fusión: Se ha usado un aparato Electrothermal Melting Point para determinar los puntos de fusión (con descomposición) de los ácidos y sus clorhidratos.

Valoraciones potenciométricas: Para la determinación aproximada de los pesos moleculares se valoraron con KOH 0,1 N (exenta de CO_2) disoluciones de los ácidos investigados preparadas con una cantidad exactamente pesada (de la que se restó su contenido de agua) en un volumen conocido de agua desionizada (exenta de CO_2).

Las constantes estequiométricas de disociación de los ácidos se obtuvieron con los datos de valoración de disoluciones 4×10^{-3} M en agua desionizada (exenta de CO_2) frente a KOH 0,1 M (exenta

de CO_2), ajustando la fuerza iónica del medio a 0,1 M con KNO_3 y operando en atmósfera inerte (N_2) a $25,00 \pm 0,02^\circ\text{C}$. Todas las valoraciones se hicieron en un Valorador Automático Radiometer, sistema RTS 622. El procedimiento ha sido descrito con detalle en la Ref. 16.

Espectros RMN: Se registraron los espectros RMN de los ácidos en D_2O (99,9 %) y DMSO-d_6 (99,8 %) con DDS y TMS como referencia interna, respectivamente, en un espectro Hitachi-Perkin-Elmer, modelo R-20, de 60 MHz.

Espectros IR: Se registraron los espectros IR ($4000\text{-}400\text{ cm}^{-1}$) de muestras sólidas de los ácidos y sus clorhidratos, preparadas en comprimido de BrK, con un espectrómetro Beckman IR-20, de doble haz.

C) CÁLCULO DE LAS CONSTANTES DE DISOCIACIÓN

Con los datos del estudio potenciométrico se han determinado las constantes estequiométricas de disociación de los ácidos AMNT, ADNT y ANPD por el método gráfico de Bjerrum (pK_2 y pK_3) y por el método estadístico seguido por IRVING, MILES y DA SILVA para el ANT y sus análogos (12, 27). Los cálculos se hicieron con un sistema computacional programado adaptado a las características de una calculadora Hewlett-Packard modelo HP-97. El fundamento y limitaciones de estos métodos y el desarrollo e instrucciones del programa de cálculo se han descrito con detalle (16) y pueden solicitarse a los autores.

RESULTADOS EXPERIMENTALES Y DISCUSION

I.—PREPARACIÓN DE LOS ÁCIDOS

Los primeros métodos de preparación del AMNT propuestos por MICHAELIS y col. (8) y KNORMANN y col. (9) no han sido ensayados por nosotros. Los de KAZARINOVA y cols. (8, 9) y UEHARA y cols. (13) dieron escaso rendimiento o un producto contaminado con ClK . La síntesis seguida añade detalles y modifica ligeramente

la de IRVING y MILES (12) y conduce a un producto de elevada pureza, con un rendimiento semejante.

Pese a que el rendimiento práctico con que se aislan los ácidos AMNT, ADNT y ANPD depende de múltiples factores, la Tabla I muestra el semejante resultado obtenido en éste y otros trabajos anteriores, por métodos más o menos diferentes. En la práctica, el aislamiento del AMNT plantea un problema singular (12, 16) por su considerable solubilidad en agua, sobre todo en presencia de electrolitos. Los ácidos ADNT y ANPD, menos solubles en agua, se aislan y purifican con mayor facilidad.

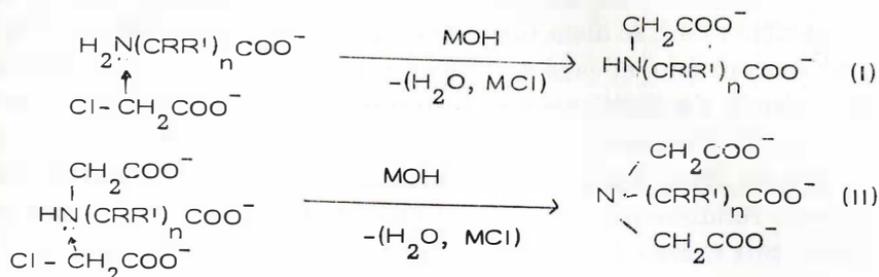
TABLA I. - Rendimiento práctico en la preparación y aislamiento de los ácidos AMNT, ADNT y ANPD.

Aminoácido original	Complejona	Rendimiento	Referencia
D, L - α -alanina	AMNT	40%	Este trabajo
		40%	(12)
		50%	(13)
		50%	(14)
2-metil- α -alanina	ADNT	45%	Este trabajo
		47%	(12)
β -alanina	ANPD	85%	Este trabajo
		82%	(19)
		80%	20

Factores que afectan a la condensación aminoácido-cloroacetato.—El notable menor rendimiento con que se obtienen los metil-derivados del ANT (en particular, el ADNT) con respecto al del ANPD no puede justificarse sólo por las operaciones que implican su aislamiento y debe estar relacionado con otros factores que afectan a la reacción de condensación. En todos los casos, el principal proceso colateral consiste en la hidrólisis alcalina del cloroacetato a hidroxiacetato.

En medio alcalino, la condensación puede entenderse como consecuencia del ataque electrofílico del carbono metilénico del

ion cloroacetato al par electrónico no compartido del átomo de nitrógeno del aminoácido, debiendo transcurrir en dos etapas según:



donde para AMNT, $R=\text{CH}_3$, $R'=\text{H}$ y $n=1$; ADNT, $R=R'=\text{CH}_3$ y $n=1$; y ANPD, $R=R'=\text{H}$ y $n=2$.

La presencia de grupo(s) metilo(s) en las α -alaninas dos efectos presumiblemente opuestos: a) su carácter electrón donante (efecto + I) aumenta la basicidad del nitrógeno amínico (y su reactividad como nucleófilo frente H_3O^+ y $\text{ClCH}_2\text{COO}^-$) y b) su efecto estérico debe dificultar el ataque del ion cloroacetato al grupo amino. En condiciones análogas, el predominio del efecto estérico sobre el + I conduciría a una mayor condensación con D,L- α -alanina que en 2-metil- α -alanina. No disponemos de datos concretos que confirmen esta hipótesis. Sin embargo, el hecho de que los ácidos AMNT y ADNT se aislen con semejante rendimiento (40-50 %), pese a la mayor solubilidad del primero, nos induce a pensar que D,L- α -alanina condensa mejor y, por tanto, que la influencia negativa del efecto estérico del grupo metilo se muestra como un factor predominante en estas condensaciones.

Parece sorprendente que los efectos estéricos de un grupo tan poco voluminoso como el metilo predominen sobre su reconocido carácter electrón-donante. No es improbable que ello se deba, al menos en parte, a que el aumento de basicidad del átomo de nitrógeno debido al efecto + I del sustituyente implique, junto a un incremento de la reactividad frente al ion cloroacetato, un aumento similar de la afinidad protónica del grupo amino.

El eludido predominio del efecto estérico sobre el efecto + I del sustituyente en el carbono α del aminoácido está apoyado por el hecho de que el ácido L-Leucin-N,N-bis(carboximetil) ($R=\text{CH}(\text{CH}_3)_2$, $R'=\text{H}$; $n=1$), en condiciones análogas a las que

se preparan los ácidos ADNT y ANPD, se aísla sólo con un rendimiento del 12 % (28) y el ácido L-aspártico-N,N-bis(carboximetil) ($R = CH_2COOH$, $R' = H$; $n = 1$), cuyo sustituyente R en α tiene además efecto — I, se aísla tan sólo con un 2 % de rendimiento (29).

Por el contrario, el carácter electrón donante del grupo metileno y la ausencia de sustituyentes voluminosos en los carbonos 2 y 3 de β -alanina favorecen la buena marcha de la condensación con cloroacetato. Esto, unido a su notable insolubilidad, concuerda con el elevado rendimiento con que se aísla el ANPD, sin necesidad de trabajar con exceso de cloroacetato.

Factores que afectan al aislamiento de los ácidos.—Se ha observado con cierta frecuencia que la insolubilidad de los ácidos aminocarboxílicos a valores de pH próximos a su punto isoelectrónico es más acusada cuanto más simétrica es su estructura molecular y menor el número de sustituyentes polares (16). La inserción de sustituyentes pequeños (CH_3) o polares ($-CH_2OH$, $-COOH$, $-SO_3H$) incrementan la solubilidad de las complexonas. Así el ácido D,L-1,2-propilenodiaminotetraacético (APDT) es más soluble que el AEDT (2) y el ácido D,L-propiónico-2,3-diaminotetraacético (carboxietilendiiminotetraacético) es algo higroscópico (30). Estas y otras observaciones se ven apoyadas por la semejante insolubilidad de los ácidos ANT y ANPD a $pH = 2,3$ (incluso en presencia de electrolitos), así como por la mayor solubilidad del AMNT (con un carbono asimétrico) respecto al ADNT y, sobre todo, al ANT. El ADNT, más simétrico que el AMNT (racémico) y con dos radicales metilo (apolares), precipita a $pH = 2$ incluso en presencia de una moderada cantidad de electrolitos, condiciones en que el AMNT difícilmente precipita (16).

II.—CARACTERIZACIÓN DE LOS ÁCIDOS

Datos analíticos: En la Tabla II se incluyen datos obtenidos en el análisis de los ácidos AMNT, ADNT y ANPD, en ésta y otras investigaciones, observándose en general una razonable concordancia de los resultados experimentales y los valores teóricos. La principal discrepancia reside en el punto de fusión del AMNT dado por KAZARINOVA y cols. (10, 11) unos cien grados inferior al encontrado por IRVING y col. (12), RIECKANSKA y cols. (14) y nosotros (16).

TABLA II. - Datos experimentales y bibliográficos del análisis de los ácidos AMNT, ADNT y ANPD.
(*) = Resultados del presente trabajo.

Acido	Peso molecular		H ₂ O %	P. F. C	C (%)		H (%)		Ref.
	teór.	exp.			teór.	exp.	teór.	exp.	
AMNT	205,17	205,33	3,49	199	40,98	41,0	5,40	5,5	(*, 16)
		206	-	200		41,15		5,5	(12)
	-	-	-	100-105		40,62		5,25	(10)
		-	-	95-100		40,62		5,25	(11)
		-	-	-		42,21		5,30	(13)
		-	-	202-203		41,05		5,48	(14)
ADNT	219,20	219,17	1,30	208	43,84	43,6	5,98	6,2	(*, 16)
		223,7	---	212		43,8		6,15	(12)
ANPD	205,17	205,4	5,08	196	40,98	40,8	5,40	5,6	(*, 16)
		--		200-205		40,55		5,30	(10)
				200-202		40,55		5,30	(11)
						40,72		5,39	(19)
						40,61		5,40	(20)

Los clorhidratos de AMNT, ADNT y ANPD funden con descomposición a 202, 212 y 198° C, respectivamente, temperaturas muy próximas a las que lo hacen los correspondientes ácidos, pero bastante inferiores a los 255° C a que descompone el ANT (16).

Constantes estequiométricas de disociación.—La Tabla III incluye los valores de pK_a de los ácidos, calculados en este y otros

TABLA III. - Constantes estequiométricas de disociación de los ácidos AMNT, ADNT, ANPD. (a) Presente trabajo (método de IRVING y col.); (b) Presente trabajo (método de BJERRUM).

Acido	pK_1	pK_2	pK_3	t (°C)	Fuerza iónica (electrolito)	Ref.
AMNT	1,38	2,48	10,37	25	0,1M(NO ₃ K)	(a)(16)
	-	2,53	10,37	25	0,1M(NO ₃ K)	(b), (16)
	1,57	2,46	10,47	20	0,1M(ClK)	(12)
	1,44	2,44	10,39	20	0,1M(NO ₃ K)	(14)
ADNT	1,33	2,47	11,38	25	0,1M(NO ₃ K)	(a), (16)
	-	2,55	11,36	25	0,1M(NO ₃ K)	(b), (16)
	1,58	2,52	11,86	20	0,1M(ClK)	(12)
ANPD	2,15	3,75	9,58	25	0,1M(NO ₃ K)	(a), (16)
	~2,2	3,76	9,57	25	0,1M(NO ₃ K)	(b), (16)
	2,06	3,69	9,66	20	0,1M(ClK)	(18)
	2,24	3,60	9,35	30	0,1M(ClK)	(31)
	2,21	3,96	9,60	25	0,1M(ClO ₄ Na)	(32)

trabajos a partir de datos de sus valoraciones potenciométricas y en las condiciones que en ella se indican. De su observación se desprende una apreciable influencia de la temperatura y del electrólito usado para ajustar la fuerza iónica del medio, cuando no también del método de cálculo. Con todo, la magnitud del pK_3 es marcadamente distinta en los tres ácidos, lo que se refleja en el hábito de las valoraciones potenciométrica y conductimétrica (16, 17).

TABLA IV. - Datos deducidos de los espectros de RMN de AMNT, ADNT y ANPD (16). El desplazamiento químico encontrado en los espectros en $DMSO-d_6$ se acompaña del corrimiento de la señal ($\Delta\delta$, ppm) debido al cambio de disolvente. (a) y (b) corresponden a espectros de ANPD con distinta proporción de humedad.

ACIDO	DISOLVENTE	DESPLAZAMIENTO			Nº H	ASIGNACION	
		QUIMICO (δ)	MULTIPLICIDAD	J (cps)			
AMNT	D_2O	1,58	Doblete	8	3	- CH_3	
		4,09	Singlete	-	4	- $CH_2=$	
		4,28	Cuatriplete	8	1	- $CH<$	
	$(D_3C)_2SO$	1,17 (-0,41)*	Doblete	8	3	- CH_3	
		3,45 (-0,46)*	Singlete	-	4	- $CH_2=$	
		3,57 (-0,71)*	Cuatriplete	8	1	- CH	
		11,39	Singlete	-	3	- $COOH, \delta^{\oplus}N - H$	
	ADNT	D_2O	1,54	Singlete	-	6	- CH_3
			4,02	singlete	-	4	- CH_2
$(D_3C)_2SO$		1,23 (-0,31)*	Singlete	-	6	- CH_3	
		3,48 (-0,54)*	Singlete	-	4	- $CH_2=$	
		11,05	Singlete	-	3	- $COOH, \delta^{\oplus}N - H$	
ANPD	D_2O	2,90	Triplete (?)	9 (?)	2	N- $CH_2 - C$	
		3,62	Triplete (?)	9 (?)	2	C- $CH_2 - COO$	
		4,02	Singlete	-	4	N- $CH_2 - COO$	
	$(D_3C)_2SO$	2,38 (-0,52)*	Triplete (?)	9 (?)	2	N- $CH_2 - C$	
		2,78 (-0,84)*	Triplete (?)	9 (?)	2	C- $CH_2 - COO$	
		3,42 (-0,60)*	Singlete	-	4	N- $CH_2 - COO$	
		(a) 7,22	Singlete	-	3	- $COOH, \delta^{\oplus}N - H, HOH$	
		(b) 9,0	Singlete	-	3	- $COOH, \delta^{\oplus}N - H$	

(*) $\Delta\delta$, ppm = Corrimiento de las señales con respecto a su posición en el espectro en D_2O .

Espectros de RMN.—Se estimó interesante utilizar el método de RMN no usado hasta ahora en tal sentido, para la caracterización de los ácidos. La Tabla IV resume los datos experimentales de los espectros en D_2O y $DMSO-d_6$, así como la asignación deducida del desplazamiento químico, la multiplicidad de las señales, las constantes de acoplamiento y la integración de la intensidad de las absorciones. Pese a la significativa influencia de la naturaleza del disolvente, estos espectros son de gran utilidad para la caracterización e identificación de los ácidos investigados y suministran valiosa información estructural, que será discutida en otra publicación.

Espectros IR.—También la forma de los espectros IR de muestras sólidas de los ácidos o los clorhidratos es de extremada utilidad para su identificación. La Tabla V resume las frecuencias de las bandas características de estos espectros. Es de señalar que existe una clara diferencia en la forma de los espectros IR de los ácidos y sus correspondientes clorhidratos, particularmente significativa entre 2.600 y 2.400 cm^{-1} , en que los ácidos presentan una absorción ensanchada y los clorhidratos uno o más pequeños picos. Uno de ellos, a 2.500-2.520 cm^{-1} , lo atribuimos al modo $\nu(\text{N}^+ - \text{H})$. Este comportamiento se ilustra en la figura 1, y es interesante advertir que se manifiesta también en los espectros del AEDT y su diclorhidrato (24).

TABLA V. Frecuencias (cm^{-1}) de las bandas características de los espectros IR de los ácidos AMNT, ADNT, ANPD y sus clorhidratos (16).

BANDA	AMNT	ClH-AMNT	ADNT	ClH-ADNT	ANPD	ClH-ANPD
$\nu(\text{N}^+ - \text{H})$ región entre 2600-2000	-	2500 p	-	2520 p	-	2520 p
	2600-2400 i a	picos	2500-2400 i a	picos	2600-2500 i a	picos
$\delta(\text{C}=\text{O})$	1735 f	1740-1710 f	1720 f 1615 af	1745 f 1720 f	1730-1630 af	1745 1715
$\delta(\text{C}=\text{O}) + \delta(\text{OH})$	1410-1395	~1405	1390	1410	~1400	1420 1320
$\delta(\text{CH})$	1250 af	1230 1190	1250 af 1230 af	1240 1190-1170	1250 1220	1230 1190
$\nu(\text{OH})$	890 f 880 f	~800 a	870 835	810 780 ar	900 880 ar	810 760

a = banda ancha o absorción ensanchada; d = débil; f = fuerte; i = intensificación en banda ancha; m = media; p = pico definido; r = absorción algo resuelta o desdoblada.

CONSIDERACIONES FINALES

Los espectros RMN de los ácidos preparados dejan fuera de toda duda su constitución y son de extrema utilidad para su identificación. La caracterización de muestras sólidas de los ácidos y sus clorhidratos se logra fácilmente por sus espectros IR. Con el mismo fin, la determinación de los pK_a y el análisis de los productos tienen una significación más limitada.

Parece claro que en la síntesis de los metil-derivados del ANT los efectos estéricos del grupo metilo dificultan la condensación de las α -alaninas con el ion cloroacetato. No obstante, el escaso

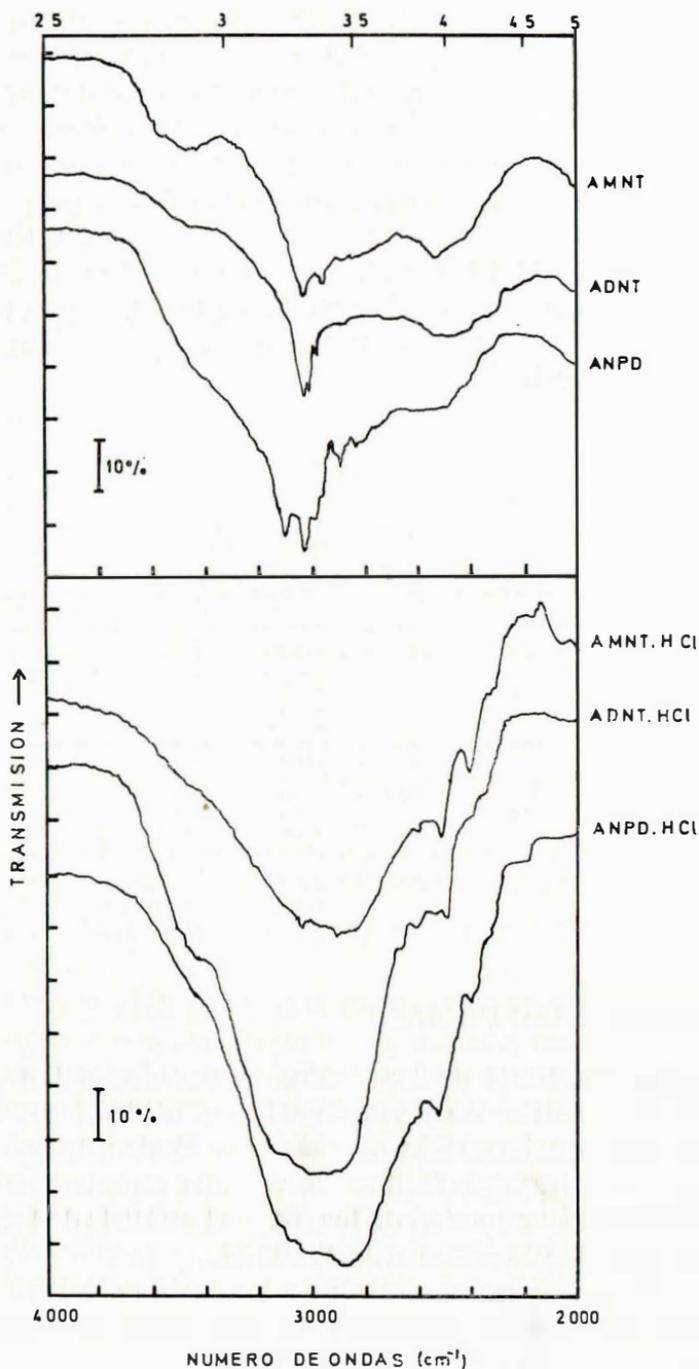
LONGITUD DE ONDA (μ)

Figura 1.—Espectros IR de AMNT, ADNT, ANPD y sus clorhidratos entre 4.000 y 2.000 cm^{-1} (en comprimidos de BrK).

rendimiento con que se aislan los ácidos AMNT y ADNT debe atribuirse, en buena parte, a su considerable solubilidad, sobre todo en presencia de electrólitos. Por ello continuamos investigando métodos que puedan resultar más efectivos para el aislamiento de ambos ácidos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—BELL, C. F.: Principles and Applications of Metal Chelation. Oxford Chem. Ser., núm. 25. Oxford University Press. London, 1977.
- 2.—DWYER, F. P., y MELLOR, D. P. (Eds.): Chelating Agents and Metal Chelates. Academic Press. London, 1964.
- 3.—MARTELL, A. E., y CALVIN, M.: The Chemistry of Metal Chelate Compounds. Prentice-Hall, Inc. New Jersey, 1952.
- 4.—CHABEREK, S., y MARTELL, A. E.: Organic Sequestering Agents. John Wiley and Sons, Inc. New York, 1959.
- 5.—WEST, T. S.: Complexometry with EDTA and related reagents. 3.ª edic. BDH Chemicals Ltd. Broglia Press. London, 1969.
- 6.—BERMEJO MARTÍNEZ, F., y PRIETO BOUZA, A.: Aplicaciones analíticas del AEDT y similares. Secretariado de Publicaciones de la Universidad de Santiago de Compostela. Santiago de Compostela, 1960.
- 7.—SCHWARZENBACH, G.: Las complexonas en el análisis químico. Edit. Atlas. Madrid, 1959.
- 8.—MICHAELIS, M., y SCHUBERT, M. P.: *J. Biol. Chem.*, 106, 331-41 (1934).
- 9.—KORMAN, S., y CLARKE, H. T.: *J. Biol. Chem.*, 221, 113-31 (1956).
- 10.—KAZARINOVA, N. F.; LATOSH, N. I., y POSTOVZKII, I. Y.: *Izvest. Sibir. Otdel Akad. Nauk SSSR*, 2, 60-70 (1960) y Tr. Sovesch po Komplexonam (Chem. Inst. Sverdlovsk; Akad Nauk SSSR, Ural'sk Filial, Sverdlovsk), 39-52 (1958).
- 11.—KAZARINOVA, N. F., y PODGORNAYA, I. V.: *Tr. Inst. Khim. Akad. Nauk SSSR, Ural'sk Filial*, 4, 103-110 (1960).
- 12.—IRVING, H. M. N. H., y MILES, M. G.: *J. Chem. Soc. (A)*, 1268-75 (1966); IRVING, H. M. N. H., y DA SILVA, J. R. R.: *J. Chem. Soc.*, 488-94 (1963).
- 13.—UEHARA, A.; KYUNO, E., y TSUCHIYA, R.: *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 41, 2393-400 (1968).
- 14.—RIEKANSKA, E.; MAYER, J.; BUMBALOVA, A., y KALINA, M.: *Chem. Zvesti.*, 28, 332-35 (1974) y 28, 768-73 (1974).

- 15.—GONZÁLEZ GARCÍA, S.; SÁNCHEZ, F. J., y NICLOS GUTIÉRREZ, J.: «Complejos de cationes trivalentes de las tierras raras con el ácido D, L-alanina-N,N-bis(carboximetil).
partamento Quím. Inorg. y Fisicoquímica. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Granada, 1975.
- 16.—NICLOS GUTIÉRREZ, J.: «Estudio de ácidos aminotricarboxílicos y de sus complejos en disolución con iones trivalentes lantánidos». Tesis Doctoral. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Granada, 1980.
- 17.—GONZÁLEZ GARCÍA, S., y NICLOS GUTIÉRREZ, J.: Estudio de complexonas derivadas de alaninas análogas al ácido nitrilotriacético. XVIII Reunión Bienal Real Soc. Esp. Fís. Quím. (Simposio de Química de la Coordinación). Comunicación 22.2. Burgos, 1980.
- 18.—SCHWARZENBACH, G.; ACKERMANN, H., y RUCKSTUHL, P.: *Helv. Chim. Acta*, 32, 1175-86 (1949).
- 19.—UEHARA, A.; KYUNO, E., y TSUCHIYA, R.: *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 41, 2385-92 (1968).
- 20.—PRATT, L., y SMITH, B. B.: *Trans. Faraday Soc.*, 65, 915-27 (1969).
- 21.—IRVING, H. M. N. H.; SHELTON, R., y EVANS, R.: *J. Chem. Soc.*, 3540-49 (1958).
- 22.—CHAPMAN, D.; LLOYD, D. R., y PRINCE, R. H.: *J. Chem. Soc.*, 3645-58 (1963).
- 23.—NAKAMOTO, K.; MORIMOTO, Y., y MARTELL, A. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, 83, 2081-84 (1962).
- 24.—GONZÁLEZ GARCÍA, S., y NICLOS GUTIÉRREZ, J.: Resultados no publicados.
- 25.—GONZÁLEZ GARCÍA, S.; NICLOS GUTIÉRREZ, J., y MATILLA HERNÁNDEZ, A.: Resultados no publicados.
- 26.—DUYCKAERTS, G.; MERCINY, E., y GATEZ, J. M.: *Anal. Chim. Acta*, 84, 383-95 (1976).
- 27.—IRVING, H. M. N. H., y MILES, M. G.: *J. Chem. Soc. (A)*, 727-32 (1966).
- 28.—UEHARA, A.; KYUNO, E., y TSUCHIYA, R.: *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 43, 414-18 (1970).
- 29.—UEHARA, A.; KYUNO, E., y TSUCHIYA, R.: *Bull. Chem. Soc. Jap.*, 42, 2835-40 (1969).
- 30.—GONZÁLEZ GARCÍA, S.; SÁNCHEZ SANTOS, F. J., y MORALES AYALA, M. F.: *Ars. Pharmaceutica*, XVII, 295-305 (1976).
- 31.—CHABEREK, S., y MARTELL, A. E.: *J. Am. Chem. Soc.*, 75, 2888-92 (1953).
- 32.—EBERLE, S. H., y ALI, S. A.: *Z. Anorg. Allg. Chem.*, 361, 1-6 (1968).