



Caracterización estructural de los ácidos *orto*, *meta* y *para*-metilhipúricos

Marilia Guillén¹, Jeans W. Ramírez¹, Asiloé J. Mora¹, Sonia Koteich², Marlín Villarroel³,
Jines E. Contreras¹, Gerzon E. Delgado^{*1}

¹) Laboratorio de Cristalografía, Departamento de Química, Facultad de Ciencias,
Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela

²) Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear, Departamento de Química, Facultad de Ciencias,
Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela

³) Laboratorio de Cinética y Catálisis, Departamento de Química, Facultad de Ciencias,
Universidad de Los Andes, Mérida 5101, Venezuela

(*) gerzon@ula.ve

Recibido: 10/08/2015

Revisado: 05/10/2015

Aceptado: 10/10/2015

<https://doi.org/10.53766/AVANQUIM/2016.10.03.01>

Resumen

En este trabajo se presenta la cristalización y estudio estructural de los ácidos isómeros *orto*, *meta* y *para*-metilhipúrico. Estos materiales se caracterizaron mediante técnicas de FT-IR, ¹H-RMN y ¹³C-RMN, y análisis térmico (TGA-DTA). El estudio por difracción de rayos-X indica que los isómeros *orto* y *meta* cristalizan en celdas monoclinicas con grupo espacial P2₁/n y C2/c, mientras que el isómero *para* cristaliza en una celda ortorrómbica con grupo espacial P2₁2₁2₁. El empaquetamiento cristalino de los tres compuestos está gobernado por interacciones intermoleculares de enlace de hidrógeno del tipo O--H...O y N--H...O formando redes tridimensionales.

Palabras claves: aminoácidos, N-acilaminoácidos, difracción de rayos-X, estructura cristalina

Abstract

In this work, the crystallization and spectroscopic characterization of the isomers *orto*, *meta* and *para* methylhippuric acids are presented. All materials were characterized by the FT-IR spectroscopic techniques, ¹H-RMN and ¹³C-RMN, and thermal analysis (TGA and DTA). The X-ray diffraction study indicates that *orto* and *meta* isomers crystallize in monoclinic cells with space group P2₁/n and C2/c, while *para* isomer crystallizes in an orthorhombic cell with space group P2₁2₁2₁. The crystal packing of the three compounds are governed by hydrogen bonds intermolecular interactions of the type O--H...O and N--H...O forming tridimensional networks.

Keywords: amino acids, N-acylanimo acids, X-ray diffraction, crystalline structure

Introducción

Los aminoácidos y sus derivados son las unidades fundamentales de las proteínas y péptidos, que cumplen funciones muy diversas participando en la mayoría de los procesos biológicos y constituyendo estructuras fundamentales en los seres vivos. Un grupo interesante de derivados de los aminoácidos lo constituyen los N-acilaminoácidos, los cuales se obtienen a partir de la conjugación del aminoácido con un grupo acilo, el cual se une a través del grupo amino¹. El más importante de este grupo de compuestos es el ácido hipúrico, o N-benzoilglicina, ya que es el principal metabolito del tolueno y su determinación en la orina humana es un indicativo de contaminación por tolueno. De la misma manera, los derivados del ácido metilhipúrico (*orto*, *meta* y *para*) son metabolitos específicos de los derivados metilados del xileno. Los principales estudios del ácido hipúrico y los isómeros del ácido metilhipúrico se enfocan a su determinación y cuanti-

ficación por cromatografía de gases o por cromatografía líquida de alta resolución, como indicadores directos de los niveles tolueno y de los isómeros del xileno en muestras de orina, respectivamente. Por tanto resulta imprescindible su determinación para conocer los niveles de contaminación, sobre todo en los trabajadores de la industria química^{2,3}.

Desde el punto de vista estructural, este tipo de compuestos, al tener grupos donadores de hidrógeno (N-H) y, a su vez, grupos aceptores de hidrógeno (C=O), son susceptibles de formar redes tridimensionales en el estado sólido, que les permite construir arreglos supramoleculares interesantes. En particular, el ácido hipúrico cristaliza en un grupo espacial no-centrosimétrico⁴ con propiedades de óptica no-lineal, lo que lo hace atractivo dado su potencial aplicación en tecnologías recientes como láser, comunicación óptica y almacenamiento de datos⁵.

Una búsqueda en la base de datos de estructuras estudiadas utilizando difracción de rayos-X en monocristales^{6,7} indica que solo se encuentran reportadas cinco estructuras de compuestos con el esqueleto molecular del ácido hipúrico. Estas son, el propio ácido⁴, el ácido 2-hidroxihipúrico⁸, el ácido 4-aminohipúrico⁹ y los compuestos halogenados ácido 4-cloro¹⁰ y ácido 4-bromo hipúrico¹¹. Por otra parte, una búsqueda en la base de datos de espectros de compuestos orgánicos¹² indica que solo aparece reportado el espectro infrarrojo del ácido 4-metilhipúrico.

En nuestro laboratorio estamos interesados en el estudio estructural de aminoácidos naturales y no-naturales¹³⁻²³, y en este trabajo se presenta la cristalización y caracterización estructural de tres derivados del ácido hipúrico; los isómeros *orto*-metilhipúrico (2mH), *meta*-metilhipúrico (3mH) y *para*-metilhipúrico (4mH) (figura 1).

Parte experimental

Síntesis

Se utilizaron los aminoácidos con fórmula molecular C₁₀H₁₁NO₃, (PM = 193,20 g/mol), ácido 2-metilhipúrico (Aldrich 98 %), 3-metilhipúrico (Aldrich 99 %) y 4-metilhipúrico (Aldrich 98 %) con grado analítico. Los mismos se recrystalizaron con el propósito de obtener cristales apropiados para el posterior estudio por difracción de rayos-X de cristal único. 1,55 moles (0,030 g) de cada uno de los isómeros se disolvieron en agua, cloroformo y agua, para los aminoácidos 2mH, 3mH y 4mH, respectivamente. Las soluciones se llevaron a reflujo con agitación constante, durante 30 minutos. Mediante evaporación lenta de los solventes se obtuvieron cristales adecuados al cabo de varias semanas. Los cristales formados son incoloros con forma de láminas rómbicas para el 2mH, agujas para el 3mH y láminas rectangulares para el 4mH. Para los estudios espectroscópicos, térmicos y difracción de rayos-X se utilizaron los materiales recrystalizados.

Los puntos de fusión se midieron en un aparato Electrothermal modelo 9100. Los espectros de FT-IR se obtuvieron utilizando pastillas de KBr en un equipo Perkin-Elmer

1600. Los espectros de resonancia magnética nuclear ¹H-RMN y ¹³C-RMN, se obtuvieron en un espectrómetro Bruker Avance DRX 400, utilizando dimetilsulfóxido-d₆. El estudio térmico se realizó en un analizador SDT Q600 de AT Instruments, en atmósfera de N₂, mediante un flujo del gas de 100 mL/min, a una velocidad de 10 °C/min. Las cantidades utilizadas en este análisis fueron de 3,16 mg del ácido 2mH, 7,37 mg de 3mH y 8,19 mg de 4mH. Los datos de difracción de rayos-X en muestra policristalina se registraron en un difractómetro con goniómetro Philips PW1050/25 utilizando radiación de CuK α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$). Los datos se colectaron en un rango de 10-55° en 2 θ con pasos de 0,02° y un tiempo de 10 segundos por paso. Se utilizó silicio como estándar externo. Los datos de difracción de rayos-X de cristal único se midieron en un difractómetro Bruker Smart Apex II CCD equipado con radiación de CuK α ($\lambda = 1,5418 \text{ \AA}$). Los datos se corrigieron por efectos de absorción y polarización.

Discusión de resultados

Espectroscopia FT-IR

Los espectros de FT-IR muestran las bandas de absorción características correspondientes a la estructura molecular de los ácidos metilhipúrico. En la tabla 1 se resumen las bandas de absorción en el espectro infrarrojo de los grupos funcionales más importantes en la estructura molecular de los tres isómeros del ácido metilhipúrico. La figura 2 muestra los espectros obtenidos experimentalmente para cada uno de los isómeros. Se destacan las bandas de flexión fuera del plano del enlace C-H dentro del anillo di-sustituido. Para el isómero 2mH se identifican dos bandas a 749,9 cm⁻¹ y 727,9 cm⁻¹, mientras que para el isómero 3mH esta señal se observa a 809,4 cm⁻¹ y para el isómero 4mH en 832,7 cm⁻¹. Por su parte, las bandas características de tensión de los enlaces N-H y O-H aparecen para el isómero 2mH en 3479,3 cm⁻¹ y 3296,8 cm⁻¹, para el isómero 3mH en 3450,6 cm⁻¹ y 3356,0 cm⁻¹, y para el isómero 4mH en 3458,6 cm⁻¹ y 3354,4 cm⁻¹, respectivamente. La aparición de ambas señales en los tres isómeros sugiere que los N-acilaminoácidos se encuentran en forma neutra en el estado sólido.

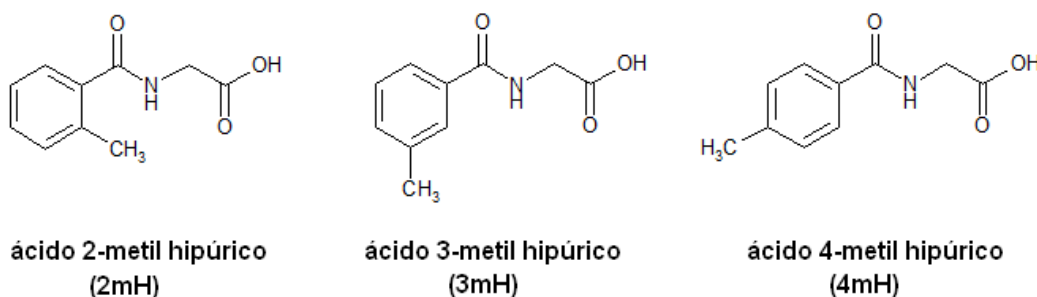


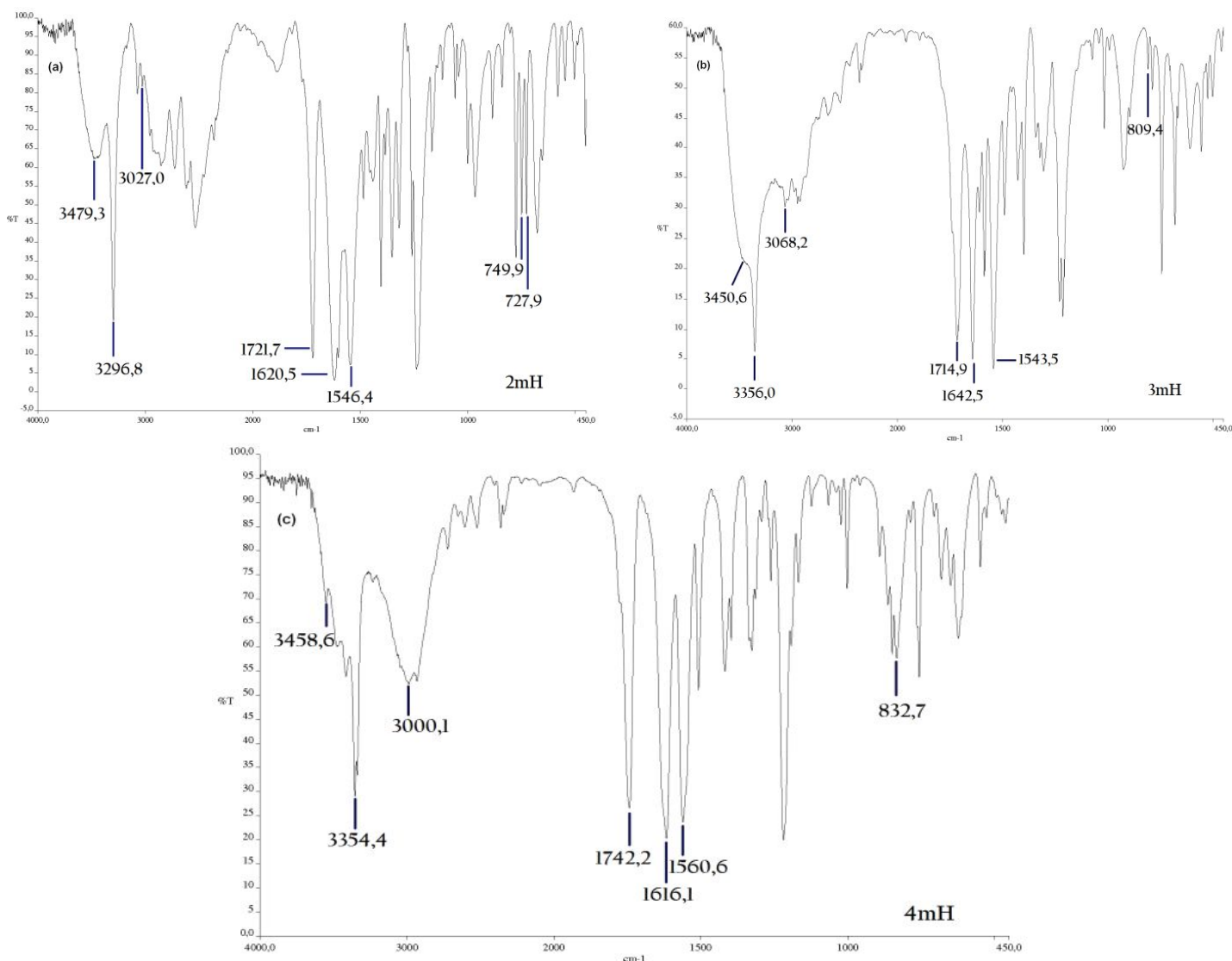


Fig. 1: Estructuras de los isómeros del ácido metilhipúrico.

Tabla 1: Asignación de las bandas características en el espectro infrarrojo de los isómeros *orto*, *meta* y *para* del ácido metilhipúrico.

Grupo funcional	Enlace	Tipo de vibración	Número de onda ν (cm^{-1})		
			2mH	3mH	4mH
	O-H	Tensión	3479,3	3450,6	3458,6
	C=O	Tensión	1721,7	1714,9	1742,2
	N-H	Tensión	3296,8	3356,0	3354,4
	C=O	Tensión	1620,5	1642,5	1616,1
Anillo aromático disustituido	=C-H	Tensión	1546,4	1543,5	1560,6
	=C-H	Flexión fuera del plano	3027,0	3068,2	3000,1
			749,9	809,4	832,7
			727,9		

**Fig. 2:** Espectros FT-IR de los isómeros a) 2mH, b) 3mH y c) 4mH.

Espectroscopia ^1H -RMN y ^{13}C -RMN

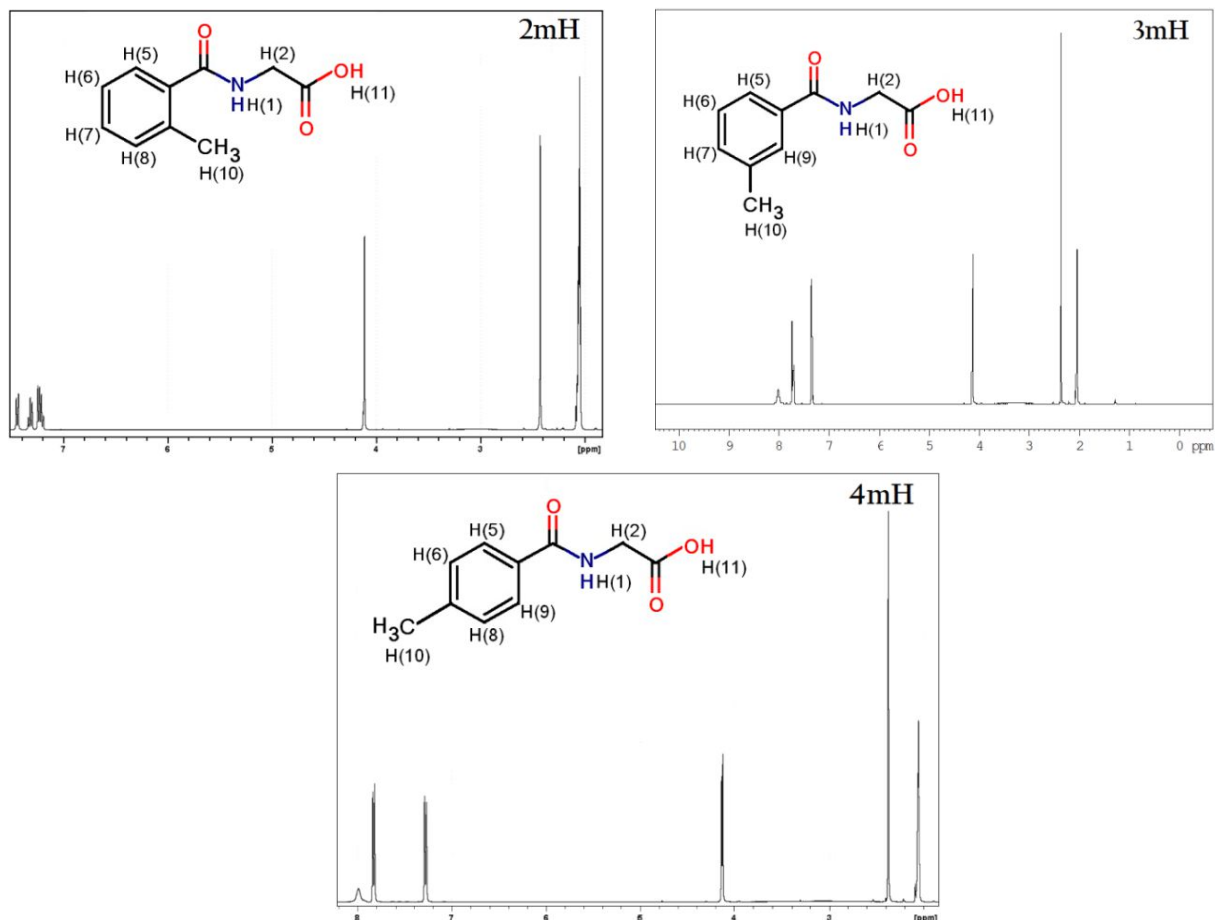
En las tablas 2 y 3 se muestra la asignación de las señales de los espectros ^1H -RMN y ^{13}C -RMN, y las figuras 3 y 4 muestran los espectros obtenidos experimentalmente para

cada uno de los isómeros.

Cabe resaltar que los estudios espectroscópicos confirman el esqueleto molecular de los ácidos *orto*-metilhipúrico (2mH), *meta*-metilhipúrico (3mH) y *para*-metilhipúrico (4mH).

Tabla 2: Desplazamientos químicos ^1H -RMN (DMSO- d_6 , 400 MHz) en los isómeros 2mH, 3mH y 4mH.

δ (ppm)	COOH (H11)	CONH (H1)					CH ₂ (H2)	CH ₃ (H10)		
<i>orto</i> (2mH)	11,0 (s)	7,45 (s)	7,44 (d, H5)	7,32 (t, H7)	7,19 (d, H8)	7,23 (t, H6)	4,11 (s)	2,43 (s)		
<i>meta</i> (3mH)	11,1 (s)	8,1 (s)	7,84 (s, H5)	7,74 (t, H9)	7,48 (d, H7)	7,37 (t, H6)	3,94 (s)	2,35 (s)		
<i>para</i> (4mH)	11,8 (s)	7,99 (s)	7,82 (d, H5, H9)	7,27 (d, H6, H8)					4,12 (s)	2,37 (s)

**Fig. 3:** Espectros RMN- ^1H de los isómeros del ácido metil hipúrico a) 2mH, b) 3mH y c) 4mH.**Tabla 3:** Desplazamientos químicos ^{13}C -RMN (DMSO- d_6 , 100 MHz) en los isómeros 2mH, 3mH y 4mH.

δ (ppm)	COOH (C1)	RHNCO (C3)						CH ₂ (C2)	CH ₃ (C10)	
<i>orto</i> (2mH)	206,32	171,39	137,51 (C9)	137,03 (C4)	131,51 (C8)	130,45 (C5)	127,9 (C6)	126,34 (C7)	41,45	19,87
<i>meta</i> (3mH)	171,28	166,54	137,52 (C8)	133,80 (C4)	131,86 (C7)	128,15 (C9)	127,74 (C6)	124,29 (C5)	41,11	20,85
<i>para</i> (4mH)	206,31	171,43	142,54 (C4)	132,45 (C5,C9)	129,81 (C6,C8)	128,12 (C7)				
									41,68	21,34

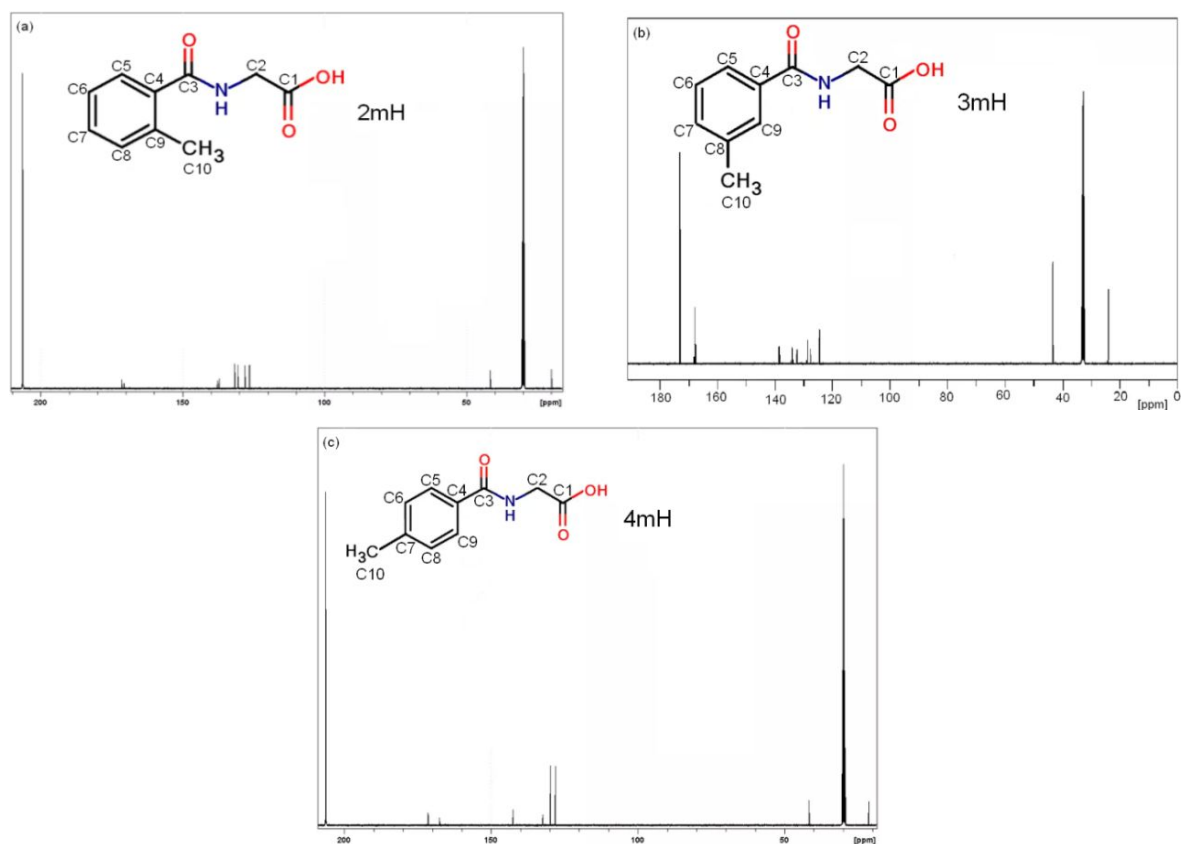


Fig. 4: Espectros RMN- ^{13}C de los isómeros del ácido metil hipúrico a) 2mH, b) 3mH y c) 4mH.

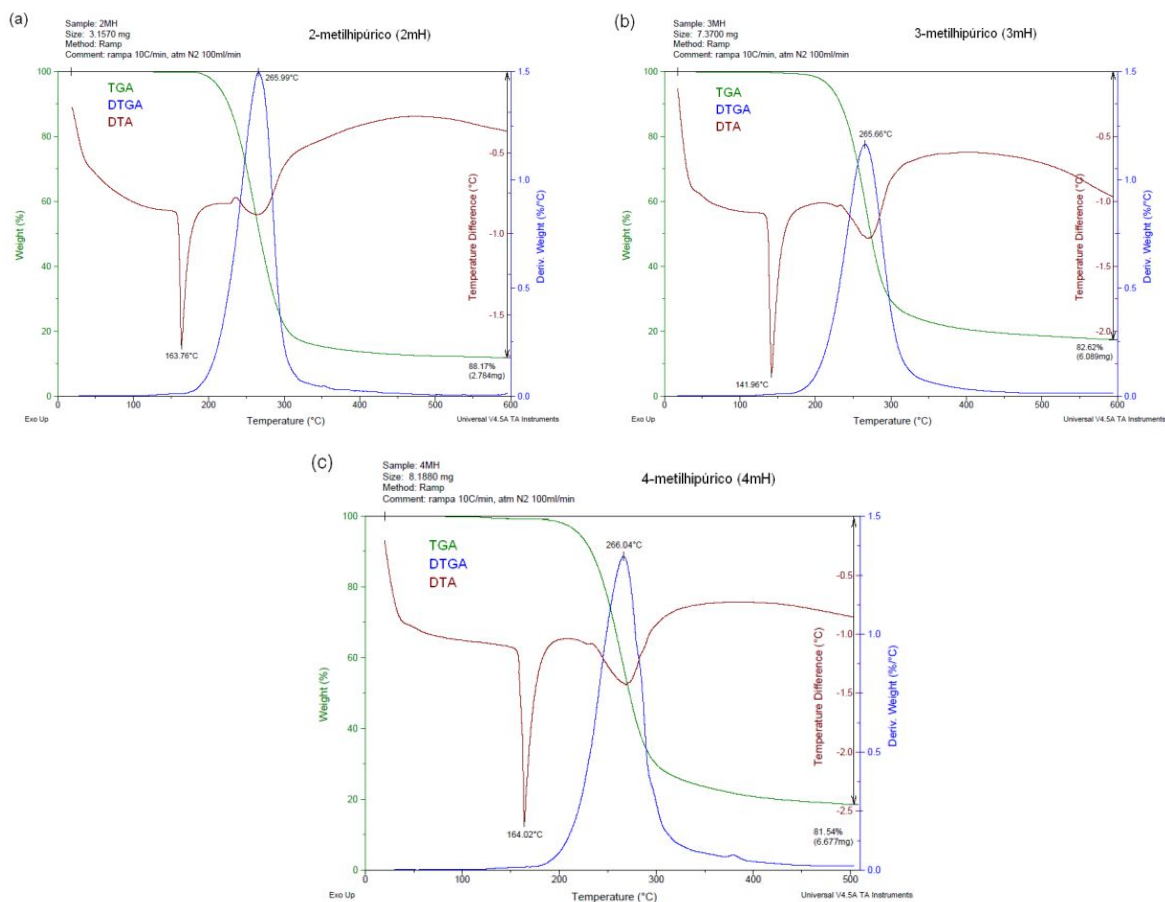


Fig. 5: Curvas TGA-DTA para los ácidos a) *orto*, b) *meta* y c) *parametilhipúrico*.

Análisis térmico (TGA-DTA)

Los puntos de fusión medidos en el fusiómetro para los aminoácidos fueron: 2mH 164-165 °C, 3mH 138-140 °C y 4mH 163-165 °C.

En la figura 4 se muestran las curvas TGA-DTGA-DTA (análisis termogravimétrico, primera derivada y análisis térmico diferencial) para cada uno de los isómeros. En cada caso, la curva TGA muestra como la descomposición térmica de los tres materiales ocurre en una sola etapa a temperaturas superiores a 120 °C lo que indica, a su vez, que no existen moléculas de agua de co-cristalización en la estructura de los compuestos. Por su parte, en las curvas DTA se observan dos picos endotérmicos que corresponden a la temperatura de fusión y la descomposición de cada material, respectivamente. El ácido 2-metilhipúrico (figura 5a) funde a 163,76 °C y descompone a 265,9 °C. El ácido 3-metilhipúrico funde a 141,96 °C y descompone a 265,66 °C (figura 5b). El ácido 4-metilhipúrico funde a 164,02 °C y descompone a 266,04 °C (figura 5c). Los puntos de fusión obtenidos en el análisis térmico concuerdan muy bien con los medidos en el fusiómetro.

Difracción de rayos-X en monocristales

Las estructuras cristalinas se determinaron utilizando el programa SHELXS²⁹ y se refinaron mediante cálculos de

mínimos cuadrados de matriz completa mediante el programa SHELXL³⁰. Todos los átomos se colocaron en posiciones calculadas y tratados usando un modelo rígido con distancias C-H 0,96-0,98 Å y $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,2 U_{\text{eq}}(\text{C})$, O-H 0,82 $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,2 U_{\text{eq}}(\text{O})$, N-H 0,86 Å y $U_{\text{iso}}(\text{H}) = 1,2 U_{\text{eq}}(\text{N})$. Los datos cristalográficos reportados aquí, se depositaron en la base de datos Cambridge Crystallographic Data Centre⁷ (www.ccdc.cam.ac.uk).

Difracción de rayos-X en muestras policristalinas (DR-X)

El estudio de los difractogramas de polvo indica la presencia de una sola fase en cada uno de los isómeros del ácido metilhipúrico. El indexado de los patrones se realizó utilizando el programa Dicvol04²⁴. Los aminoácidos 2 y 3-metilhipúrico cristalizan en celdas monoclinicas, mientras que el ácido 4-metilhipúrico cristaliza en una celda ortorrómbica con los parámetros de celda unidad mostrados en la tabla 4. En esta tabla se indican también las figuras de mérito del indexado^{25,26}.

Las celdas obtenidas se refinaron sin modelo estructural por el método de Le Bail²⁷ utilizando el programa Fullprof²⁸. La figura 6 muestra el resultado de los refinamientos observándose un buen ajuste entre los patrones observado y calculado para cada compuesto.

Tabla 4: Parámetros de celda unidad obtenidos para cada isómero luego del indexado.

Isómero	<i>a</i> (Å)	<i>b</i> (Å)	<i>c</i> (Å)	β (°)	<i>V</i> (Å ³)	$M_{(20)}$ ²⁵	$F_{(30)}$ ²⁶
2mH	8,514(2)	10,435(3)	10,730(3)	92,46(2)	952,1(1)	31,7	45,0 (0,0049, 90)
3mH	21,02(1)	10,042(1)	10,486(1)	119,92(7)	1917,4(5)	30,3	37,9 (0,0085, 90)
4mH	5,173(2)	8,286(3)	22,264(8)		954,4(6)	38,1	49,1 (0,0058, 55)

Tabla 5: Datos cristalográficos de los ácidos 2mH, 3mH y 4mH obtenidos por difracción de monocristal.

	2-metilhipúrico (2mH)	3-metilhipúrico (3mH)	4-metilhipúrico (4mH)
Fórmula química	C ₁₀ H ₁₁ NO ₃	C ₁₀ H ₁₁ NO ₃	C ₁₀ H ₁₁ NO ₃
Peso fórmula (uma)	193,20	193,20	193,20
Sistema cristalino	Monoclínico	Monoclínico	Ortorrómbico
Grupo espacial	P2 ₁ /n (N°14)	C2/c (N°15)	P2 ₁ 2 ₁ 2 ₁ (N°19)
<i>a</i> (Å)	8,5133(1)	21,015(3)	5,1732(18)
<i>b</i> (Å)	10,4294(1)	10,0407(12)	8,286(3)
<i>c</i> (Å)	10,7256(1)	10,4853(17)	22,264(8)
β (°)	92,231(6)	119,93	
<i>V</i> (Å ³)	951,6(2)	1917,39(50)	954,35(60)
<i>Z</i>	4	8	4
<i>P</i> _{calc} (g/cm ³)	1,343	1,339	1,345
Refl. únicas (Rint)	1648 (0,030)	1940 (0,080)	770 (0,026)
R(F ²) [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	0,0481	0,0827	0,0266
wR(F ²) [<i>I</i> > 2σ(<i>I</i>)]	0,1561	0,2835	0,0808

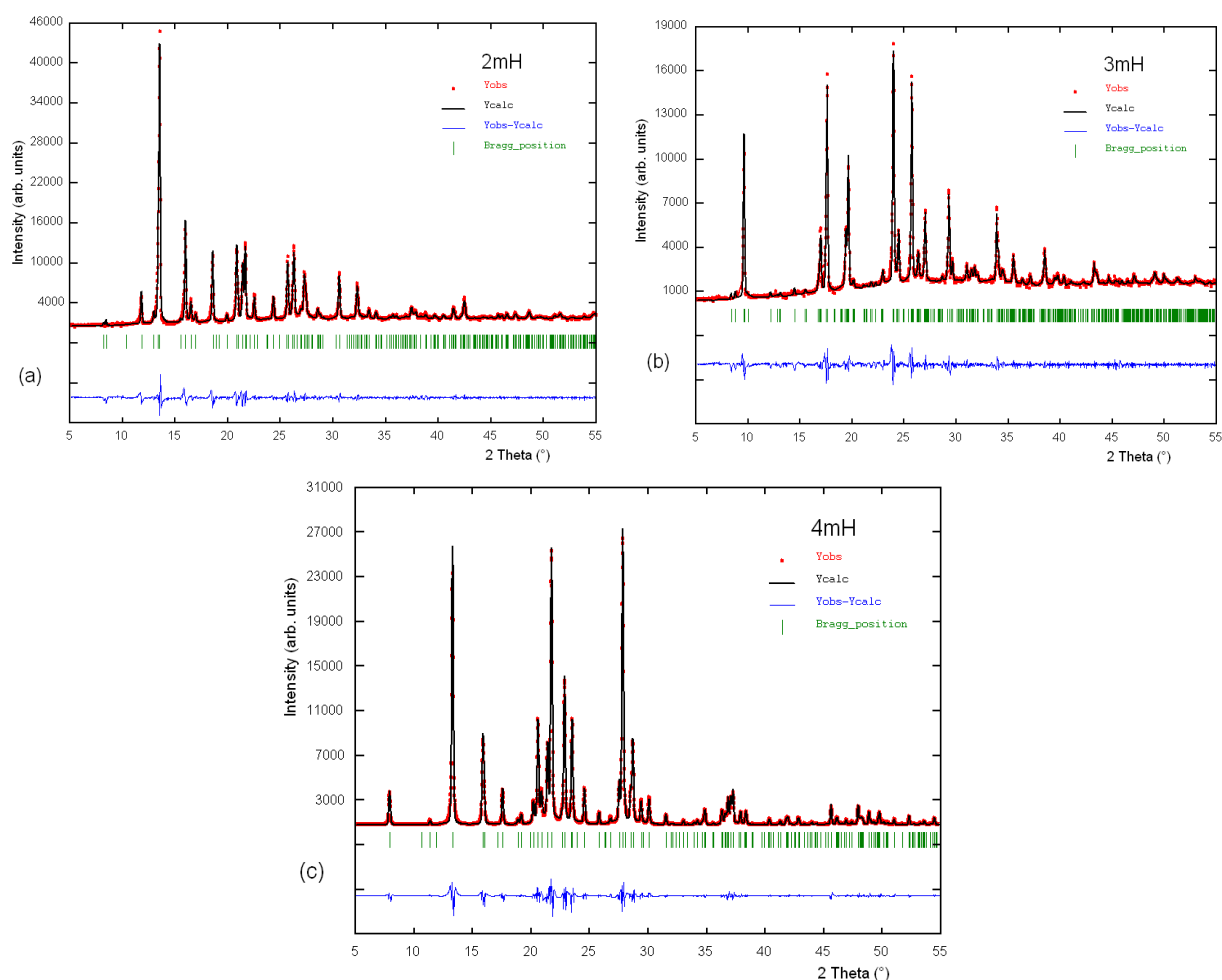


Fig. 6: Gráficas del ajuste de las celdas encontradas para el ácido a) 2-metilhipúrico, b) 3-metilhipúrico y c) 4-metilhipúrico.

Los parámetros de celda concuerdan muy bien con los encontrados con difracción de monocristal, lo cual es un indicativo de la homogeneidad de las muestras cristalizadas.

Los ácidos 2mH y 3mH cristalizan en celdas monoclinicas con grupo espacial $P2_1/n$ y $C2/c$, respectivamente. El ácido 4mH cristaliza en una celda ortorrómbica con grupo espacial $P2_12_12_1$. En la figura 7 se muestran las unidades asimétricas de cada uno de los isómeros. En la tabla 5 se resumen los

datos cristalinos colección de datos y figuras de mérito del refinamiento estructural de cada compuesto. En la tabla 6 se muestran algunas distancias de enlace para los diferentes isómeros, comparadas con el ácido hipúrico⁴ y el ácido 4-aminohipúrico⁹. En la figura 8 se pueden observar los empaquetamientos cristalinos y los enlaces de hidrógeno formados en cada uno de los isómeros.

Tabla 6: Algunas distancias (Å), ángulos de enlace y de torsión (°) en los isómeros 2mH, 3mH y 4mH (Å), comparados con el ácido hipúrico y el ácido 4-aminohipúrico.

	2-metilhipúrico (2mH)	3-metilhipúrico (3mH)	4-metilhipúrico (4mH)	hipúrico ⁴	4-amino hipúrico ⁹
O1 -C1	1,311(2)	1,307(6)	1,321(4)	1,321(2)	1,327(2)
O2 -C1	1,202(2)	1,195(6)	1,196(3)	1,191(2)	1,195(2)
O3 -C3	1,230(2)	1,234(5)	1,229(4)	1,250(2)	1,243(2)
N1-C2	1,446(2)	1,449(6)	1,434(3)	1,447(2)	1,454(2)
N1-C3	1,331(2)	1,333(6)	1,345(3)	1,331(2)	1,337(2)
C2-N1-C3	120,0(1)	120,8(3)	122,3(2)	121,8(2)	122,4(1)
C1-C2-N1-C3	81,4(6)	-82,5(3)	-83,5(3)	-88,2(2)	-105,8(1)
C2-N1-C3-C4	-169,9(1)	178,0(4)	176,3(2)	-178,2(2)	178,8(1)

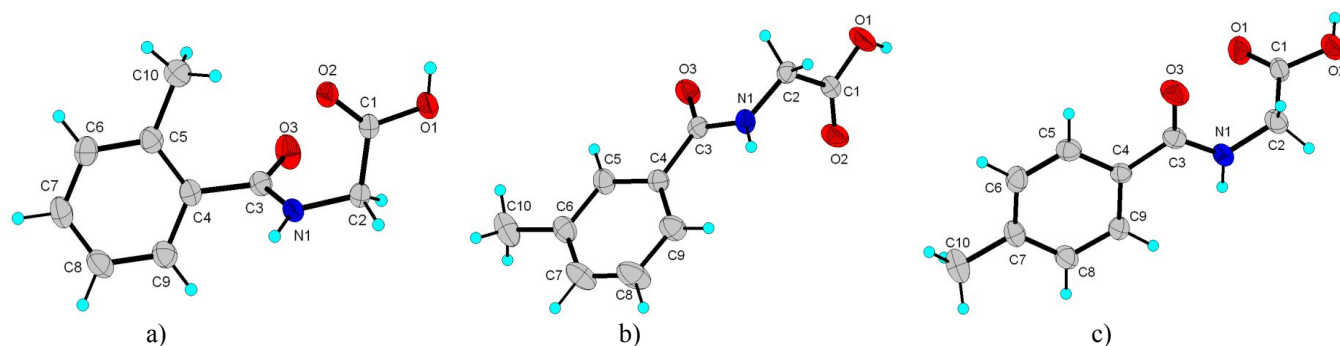


Fig. 7. Estructura molecular de cada uno de los isómeros a) 2mH, b) 3mH, c) 4mH. Los elipsoides se dibujaron con una probabilidad del 30%. Los átomos de hidrógeno se muestran como esferas con radio arbitrario.

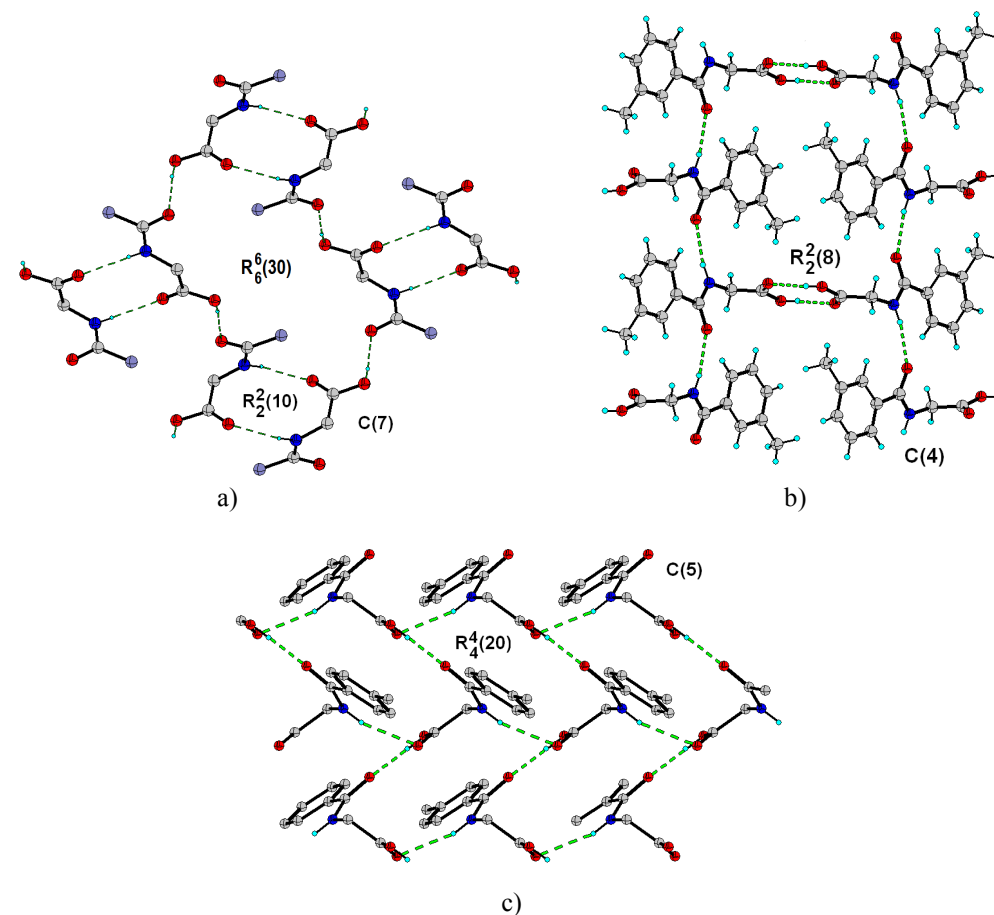


Fig. 8: Empaquetamientos cristalinos en los ácidos a) 2mH, b) 3mH y c) 4mH. En la figura a) no se dibujan los anillos aromáticos para poder apreciar los enlaces.

Todos los isómeros cristalizan en forma neutra. Las distancias de enlace O1-C1 mayores que las distancias O2-C1 indican la posición del hidrógeno del grupo OH y corroboran el doble enlace en la distancia O2-C1. En ninguna de las estructuras hay solvente ocluido tal y como lo indicó el análisis térmico.

En el ácido 2-metilhipúrico el grupo amida y el grupo ácido, están dispuestos en el espacio casi de forma perpendicular, generando un ángulo de torsión de 81,4°. Por otro lado, el grupo ácido se encuentra en forma diedral con respecto al

sistema aromático generando un ángulo de 15,0(1)°, esto propicia que el grupo metilo se halle en posición *cis* con respecto al ácido. La estructura cristalina del ácido 2-metilhipúrico está estabilizada por dos tipos de enlaces de hidrógeno. El primero de ellos, del tipo O1-H1A...O3 que une un grupo ácido con el grupo carbonilo de la amida en la molécula siguiente, descrito por el grafo C(7)³¹. El otro enlace de hidrógeno es del tipo N1-H1A...O3, el cual forma un dímero cíclico amida-amida según el grafo $R_2^2(10)$. La combinación de ambos grafos genera un macrociclo de 30 átomos $R_6^0(30)$.

En la estructura cristalina del ácido 3-metilhipúrico el grupo amida se encuentra casi en el mismo plano del anillo aromático formando un ángulo diedral con valor de 11,8 (2)°. Por otro lado, el plano que forma el grupo ácido forma un ángulo casi perpendicular con el plano del anillo, con un valor de 87,9(1)°. El empaquetamiento cristalino del ácido 3-metilhipúrico muestra una red de enlaces de hidrógeno, el primero de ellos, del tipo N--H...O que une el nitrógeno de la amida con el grupo carbonilo de la amida de otra molécula del ácido, descrito con el grafo C(4)³¹. El otro enlace de hidrógeno es del tipo O--H...O, y forma un dímero cíclico ácido-ácido con grafo R₂²(8).

Por su parte, en la molécula del ácido 4-metilhipúrico el grupo amida se encuentra casi en el mismo plano del anillo aromático formando un ángulo diedral cuyo valor es de 10,7 (1)° siendo un ángulo más cerrado respecto a la estructura de los isómeros 2mH y 3mH. En este caso la estructura se estabiliza por enlaces de hidrógeno del tipo N--H...O que unen el nitrógeno de la amida con el grupo carbonilo de la amida de otra molécula del ácido, formando una cadena con grafo C(5)³¹ y enlaces del tipo O--H...O, los cual permite la formación de un macrociclo de 20 átomos, formando un anillo con grafo R₄⁴(20).

Conclusiones

La caracterización espectroscópica por FT-IR y RMN permitió elucidar estructuralmente los aminoácidos isómeros *orto*, *meta* y *para*-metilhipúrico. El análisis térmico indica que para cada uno de los mismos, la descomposición térmica se produce en una sola etapa. Estos análisis permiten proponer que las estructuras en el estado sólido son neutras y sin agua de cristalización. El análisis por DR-X indica que los ácidos 2mH y 3mH cristalizan en celdas monoclinicas con grupo espacial P2₁/n y C2/c, respectivamente. El ácido 4mH cristaliza en una celda ortorrómbica con grupo espacial P2₁2₁2₁. El empaquetamiento cristalino de los tres ácidos está gobernado por interacciones intermoleculares de enlace de hidrógeno del tipo O--H...O y N--H...O que le confiere mayor estabilidad a la estructura cristalina de los tres isómeros.

Agradecimientos

Este trabajo ha sido financiado gracias al CDCHTA (C-1877-14-08-B) y al FONACIT (LAB-97000821).

Referencias

- H Wakamatsu, J Uda, N Yamakami. Synthesis of *N*-acyl amino-acids by a carbonylation reaction. **J. Chem. Soc. D**, 1540 (1971).
- I Lundberg, J Sollenberg. Correlation of xylene exposure and methyl hippuric acid excretion in urine among paint industry workers. **Scand. J. Work. Environ. Health**, 12, 149-153 (1986).
- MV Antunes, CG Niederauer, R Linden. Development, validation and clinical evaluation of a dried urine spot method for determination of hippuric acid and creatinine. **Clinical Biochem.**, 46, 1276 (2013).
- W Harrison, S Rettig, J Trotter. The crystal and molecular structure of hippuric acid. **J. Chem. Soc. Perkin Trans 2**, 1036 (1972).
- N Vijayan, G Bhagavannarayana, AMZ Slawin. Growth by SR method and characterization of hippuric acid single crystals. **Mater. Lett.**, 62, 2480-2482 (2008).
- CR Groom. FH Allen. The Cambridge structural database in retrospect and prospect. **Angew. Chem. Int. Ed.**, 53, 662-671 (2014).
- Cambridge Structural Database. (CSD), Cambridge Crystallographic Data Centre. Version 5.36. May. (2015).
- WJJ Smeets, JA Kanters, K Venkatasubramanian. Structure of *N*-salicyloylglycine. **Acta Cryst.**, C41, 272 (1985).
- AJ Dobson, RE Gerkin. Hydrogen bonding in 4-aminohippuric acid. **Acta Cryst.**, C55, 206 (1999).
- IU Khan, MH Khan, MN Arshad, M Akkurt. 2-(4-chlorobenzamido) acetic acid. **Acta Cryst.**, E67, o916 (2011).
- F Eissmann, E Weber. Derivatives of amino acid and dipeptide methyl esters-Synthesis and structural study. **J. Mol. Struct.**, 994, 392 (2011).
- SDBS Web : <http://sdbs.db.aist.go.jp> (National Institute of Advanced Industrial Science and Technology, acceso 20 de mayo 2015)
- LE Seijas, GE Delgado, AJ Mora, A Bahsas, J Uzcátegui. Síntesis y caracterización de los derivados *N*-carbamoilo e hidantoina de la *L*-prolina. **Av. Quím.**, 1, 3-7 (2006).
- GE Delgado, AJ Mora, J Uzcátegui, A Bahsas, A Briceño. (S)-5-benzylimidazolidine-2,4-dione monohydrate. **Acta Cryst.**, C63, o448-o450 (2007).
- LE Seijas, GE Delgado, AJ Mora, AN Fitch, M Brunelli. On the crystal structures and hydrogen bond patterns in proline pseudo-polymorphs. **Powder Diffr.**, 25, 235-240 (2010).
- LE Seijas, AJ Mora, GE Delgado, M Brunelli, AN Fitch. Study of the conversion of *N*-carbamoilo-*L*-proline to hydantoin-*L*-proline using powder synchrotron X-ray diffraction. **Powder Diffr.**, 25, 342-348 (2010).
- GE Delgado, LE Seijas, AJ Mora, T Gonzalez, A Briceño. Synthesis, crystal structure and hydrogen-bonding patterns in (RS)-1-carbamoyl pyrrolidine-2-carboxylic acid. **J. Chem. Cryst.**, 42, 388-393 (2012).
- GE Delgado, LE Seijas, AJ Mora. Synthesis and crystal structure determination of hydantoin-*L*-proline. **J. Chem. Cryst.**, 42, 968-971 (2012).
- GE Delgado, AJ Mora, JE Contreras, J Bruno-Colmenárez, R Atencio. Synthesis, crystal and molecular structure, and hydrogen-bonding patterns in hydantoin-*L*-aspartic acid. **Av. Quím.**, 8, 59-63 (2013).

20. GE Delgado, EE Ávila, AJ Mora, T González, A Briceño, C Chacón. N-carbamoyl-piperidine-4-carboxylic acid: An X-ray and density functional tight-binding study. **Mol. Cryst. Liq. Cryst.**, **623**, 358-364 (2015).
21. GE Delgado, AJ Mora, JE Contreras, C Chacón. X-ray powder diffraction data for 1-methylhydantoin, an antiasthmatic and antidepressive hydantoin compound. **Powder Diffr.**, **30**, 178-181 (2015).
22. GE Delgado, AJ Mora, T González, J Uzcátegui, R Lobaton, G Marroquín. Supramolecular assembly in the chiral N-carbamoyl compound 2-ureido-pentanedioic acid. **Mol. Cryst. Liq. Cryst.**, en prensa.
23. GE Delgado, JA Rodríguez, AJ Mora, J Bruno-Colmenárez, J Uzcátegui, C Chacón. Supramolecular structure of 5-methyl-5-phenyl hydantoin and hydrogen-bonding patterns in 5,5'-substituted hydantoins. **Mol. Cryst. Liq. Cryst.**, en prensa.
24. A Boultif, D Löuer. Powder pattern indexing with the dichotomy method. **J. Appl. Cryst.**, **37**, 724-731 (2004).
25. PM de Wolff. A simplified criterion for the reliability of a powder pattern indexing. **J. Appl. Cryst.**, **1**, 108-113 (1968).
26. GS Smith, RL Snyder. F_N : A criterion for rating powder diffraction patterns and evaluating the reliability of powder-pattern indexing. **J. Appl. Cryst.**, **12**, 60-65 (1979).
27. A Le Bail. Whole powder pattern decomposition methods and applications: A retrospection. **Powder Diffr.**, **20**, 316-326 (2005).
28. J Rodríguez-Carvajal, Fullprof, version 5.7, LLB, CEA-CNRS, France, 2015.
29. GM Sheldrick. A short history of SHELX. **Acta Cryst.**, **A64**, 112-122 (2008).
30. GM Sheldrick. Crystal structure refinement with SHELXL. **Acta Cryst.**, **C71**, 3-8 (2015).
31. MC Etter. Encoding and decoding hydrogen-bond patterns of organic-compounds. **Acc. Chem. Res.**, **23**, 120-126 (1990).