

## Complejos de Berilio(II) en solución acuosa con aminoácidos. Parte 2: Complejos de Be(II) con histidina y cisteína

Vito Lubes<sup>1\*</sup>, Felipe Brito<sup>1\*</sup>, Mary Lorena Araujo<sup>1</sup>, Alberto Vacca<sup>2</sup>, Stefano Midollini<sup>3</sup> y Alfredo Mederos<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Centro de Equilibrios en Solución, Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Universidad Central de Venezuela (UCV). <sup>2</sup>Dipartimento di Chimica, Università di Firenze, Via della Lastruccia 3 I-50019 Sesto Fiorentino (Italia). <sup>3</sup>Istituto per lo Studio della Stereochimica ed Energética dei Composti di Coordinazione, CNR, Firenze (Italia).

<sup>4</sup>Departamento de Química Inorgánica, Universidad de La Laguna, La Laguna, Tenerife, Islas Canarias, España

Recibido: 28-02-02 Aceptado: 14-05-03

### Resumen

Las especies complejas formadas en solución acuosa entre berilio(II) y L-Histidina (His) y L-Cisteína (Cys) fueron estudiadas a 25°C en NaClO<sub>4</sub> 3,0 M (M = mol.dm<sup>-3</sup>) como medio iónico. La aplicación del programa computacional LETAGROP a los datos potenciométricos, tomando en consideración la hidrólisis del berilio(II) y variando la relación ligando-metal (*R*), indica la formación en cantidades significativas de los complejos [BeH<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup>, [Be<sub>3</sub>(OH)<sub>3</sub>H<sub>2</sub>L]<sup>3+</sup> y [Be(OH)<sub>2</sub>HL]<sup>-</sup> con la L-Cisteína (Cys, H<sub>2</sub>L) y de los complejos BeH<sub>2</sub>L<sup>3+</sup>, [BeHL]<sup>2+</sup>, Be<sub>3</sub>(OH)<sub>3</sub>H<sub>2</sub>L<sup>4+</sup>, [Be<sub>3</sub>(OH)<sub>3</sub>HL]<sup>3+</sup> y [Be<sub>3</sub>(OH)<sub>3</sub>(HL)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> con la L-Histidina (His, HL). Las respectivas constantes de formación β<sub>pqr</sub> fueron determinadas.

**Palabras clave:** Aminoácidos; constantes de estabilidad; complejos de Be(II); equilibrios en solución; especiación.

## Beryllium(II) complexes in aqueous solution with amino acids. Part 2: Be(II) complexes with histidine and cysteine

### Abstract

The complex species formed in aqueous solution between beryllium(II) and L-Histidine (His) and L-Cysteine (Cys) were studied at 25°C and 3.0 M (M = mol.dm<sup>-3</sup>) ionic strength in NaClO<sub>4</sub>. The application of the least-squares computer program LETAGROP to the experimental *emf* data, taking into account the hydrolysis of beryllium(II), upon varying the ligand-metal ratios (*R*), indicates the complexes [BeH<sub>2</sub>L]<sup>2+</sup>, [Be<sub>3</sub>(OH)<sub>3</sub>H<sub>2</sub>L]<sup>3+</sup> and [Be(OH)<sub>2</sub>HL]<sup>-</sup> with L-Cysteine (Cys, H<sub>2</sub>L) and the complexes [BeH<sub>2</sub>L]<sup>3+</sup>, [BeHL]<sup>2+</sup>, [Be<sub>3</sub>(OH)<sub>3</sub>H<sub>2</sub>L]<sup>4+</sup>, [Be<sub>3</sub>(OH)<sub>3</sub>HL]<sup>3+</sup> and [Be<sub>3</sub>(OH)<sub>3</sub>(HL)<sub>2</sub>]<sup>3+</sup> with L-Histidine (His, HL) are formed in significant amounts. The formation constants β<sub>pqr</sub> were determined.

**Key words:** Amino acids; Be(II) complexes; speciation; solution equilibria; stability constants.

\* Autor para la correspondencia. Telf: (0212) 605-13-47 y 605-13-57. E-mail: vitolubes@hotmail.com, fbrito@strix.ciens.ucv.ve.

## 1. Introducción

Salvo los elementos radiactivos, el berilio es el elemento más tóxico de la Tabla Periódica (1). También es el segundo elemento más liviano después del litio y por sus propiedades únicas, es ampliamente usado en la industria aeroespacial, nuclear y electrónica (2). Los principales problemas de toxicidad asociados al berilio se deben a la inhalación de partículas de polvo que contengan este metal. Originalmente la contaminación con berilio se llamó *beriliosis* y fue observada por primera vez durante los años treinta en plantas de extracción del metal en las minas de berilio de Alemania y Rusia. Esta enfermedad se presenta en dos formas, una aguda y otra crónica (3).

Las dos formas de la enfermedad del berilio se relacionan más directamente con la capacidad del berilio para formar enlaces covalentes con los átomos de oxígeno de las proteínas y por lo tanto, interfiere con el normal funcionamiento de las enzimas del organismo. Se sabe que el berilio y sus compuestos son tóxicos para las células de los mamíferos, ya que puede interferir con las funciones inmunológicas y después de la inhalación puede causar cáncer (4, 5). El entendimiento de la base molecular de la toxicidad del berilio permanece aún muy especulativo. Iones como  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y  $\text{Ca}^{2+}$  son homeostáticamente controlados por algunos sistemas biológicos, que pueden protegerse del exceso de estos elementos, por ejemplo, en los organismos marinos (6). Sin embargo, con el berilio los sistemas biológicos no tienen la oportunidad de desarrollar protección contra este elemento.

Los estudios de la coordinación y posibilidad de quelación del Be(II) en disolución acuosa son muy limitados (7, 8), no solamente por su toxicidad, sino también debido a la dificultad presentada por la fuerte tendencia del ion  $\text{Be}^{2+}$  a hidrolizarse (9), amén a que su pequeño radio induce a la tetracoordinación (10). Se observa que con el Be(II) el anión  $\text{OH}^-$  es altamente competitivo con res-

pecto a otros ligandos. De tal manera que las especies resultantes de sus reacciones de hidrólisis siempre deberán ser consideradas en la determinación de la estequiometría y las constantes de formación de tales complejos de Be(II).

En los años cincuenta, Perkins (11, 12) determinó las constantes de formación de los complejos de Be(II) y un amplio grupo de aminoácidos y derivados (L). Consideró la formación de los complejos  $[\text{BeL}]^+$  y  $[\text{BeL}_2]$ . La constante de formación del complejo  $\text{BeL}_2$  variaba en el intervalo  $10^{11}$ - $10^{14}$ , sin que al parecer tuviera mucha importancia la estructura del aminoácido. Sin embargo, esos valores fueron rechazados por Sívago *et al.* (13) debido a que Perkins no había tomado en consideración la hidrólisis del Be(II) en sus cálculos.

En 1970, Chawla y Andrews (14) estudiaron por medio de medidas de *emf(H)* la formación de los complejos de Be(II) con ligandos como la histidina y algunos derivados (histamina, histidilhistidina y histidilhistidinametiléster). Interpretaron los datos suponiendo solamente las especies  $[\text{BeL}]^+$  y  $[\text{BeL}_2]$ , sin considerar la hidrólisis del Be(II), proponiendo la posibilidad de la quelación del Be(II) con moléculas que contienen átomos de nitrógeno donadores de electrones y señalando que la existencia de átomos de oxígeno no era un requisito indispensable para la formación de complejos con este metal.

Posteriormente, Bertin *et al.* (15) estudiaron el sistema Be(II)-histidina mediante medidas de *emf(H)* para distintas relaciones aminoácido:metal ( $=R$ ) y considerando la hidrólisis del Be(II) (16). Reportaron la formación de seis especies, a saber:  $[\text{Be}(\text{H}_2\text{L})]^{3+}$ ,  $[\text{Be}(\text{HL})]^{2+}$ ,  $[\text{Be}_3(\text{OH})_3(\text{H}_2\text{L})]^{4+}$ ,  $[\text{Be}_3(\text{OH})_3(\text{HL})]^{3+}$ ,  $[\text{Be}_3(\text{OH})_3(\text{HL})_2]^{3+}$  y  $[\text{Be}_3(\text{OH})_3(\text{HL})_3]^{3+}$ .

El problema principal en el estudio estos sistemas radica en que siempre debe considerarse en los cálculos la hidrólisis del ion  $\text{Be}^{2+}$ . Chawla y Andrews (14) no lo hicieron, porque supusieron que al emplear un valor de  $R$  grande, se prevenía dicha hidrólisis.

sis. Esto pudiera ser cierto utilizando valores muy grandes de  $R$  en sistemas que formen complejos fuertes. Su error fue emplear el valor  $R = 4$  y bajo estas condiciones no se puede evitar la hidrólisis del Be(II) al estudiar estos sistemas. Sin embargo, Bertin *et al.* (15) si consideraron las reacciones de hidrólisis del Be(II), pero suponiendo el modelo de Kakihana y Sillén (17), que considera a las especies  $[\text{Be}_2(\text{OH})]^{3+}$ ,  $[\text{Be}_3(\text{OH})_3]^{3+}$  y  $[\text{Be}(\text{OH})_2]$  y que no incluye a las especies  $[\text{Be}_5(\text{OH})_6]^{4+}$  y  $[\text{Be}_6(\text{OH})_8]^{4+}$ , propuestas adicionalmente por J. Bruno (18), las cuales son muy importantes en la zona  $Z(pH)$  donde predominan los complejos que se forman entre el Be(II) y los aminoácidos.

Una de las razones más importantes que obligan al estudio de la formación de complejos de berilio con aminoácidos es su posible participación en procesos de inhibición enzimática (4). Como ya se dijo, uno de los principales mecanismos de inhibición es la competencia del berilio con el  $\text{K}^+$  ó  $\text{Mg}^{2+}$  (19), iones que son importante en ciertos procesos enzimáticos ó por quelación. Como se ha podido apreciar, dada la divergencia en los modelos propuestos para los complejos de Be(II) con aminoácidos y que uno de los mecanismos más importantes de la inhibición enzimática que produce el berilio es probablemente por quelación con los aminoácidos en las proteínas, se ha hecho necesario llevar a cabo un estudio cuidadoso de los complejos de Be(II) y los aminoácidos L-Histidina (His) y L-Cisteína (Cys) por medio de medidas de  $emf(H)$  con el objetivo de obtener mayor información acerca de la especiación química de estos sistemas en solución.

## 2. Materiales y Métodos

### Reactivos

Los aminoácidos His (BDH > 99%) y Cys (Sigma > 99%) fueron empleados sin mayor purificación.

La disolución madre de  $\text{Be}(\text{ClO}_4)_2$  se preparó haciendo reaccionar berilio metálico

(Aldrich 99,99%) con un ligero exceso de  $\text{HClO}_4$  (Merck p.a.). La concentración de metal fue determinada gravimetricamente (20, 21) y la acidez libre fue determinada mediante el método de Gran (22).

La disolución madre de  $\text{HClO}_4$  fue preparada a partir de la solución comercial y fue estandarizada potenciométricamente frente a NaOH normalizado, usando el método de Gran (22). La disolución de NaOH estándar se preparó a partir de ampollas Titrisol (Merck p.a.) y fue estandarizada con biftálato de potasio (Merck p.a.) (23).

Todas las disoluciones preparadas contienen  $\text{NaClO}_4$  3,0 M como medio iónico.

### Aparatos y procedimientos de medida

Las titulaciones potenciométricas fueron llevadas a cabo en atmósfera inerte burbujeando  $\text{N}_2$  (GIV) dentro del vaso de reacción, el cual consiste en un recipiente de paredes dobles que es mantenido a  $25^\circ\text{C}$  haciendo circular agua termostatazada en las paredes externas del mismo.

Las medidas de  $emf(H)$  se realizaron mediante la siguiente pila:



donde EV representa el electrodo de vidrio; S, la disolución en equilibrio y REF, representa la semicelda de referencia, empleando un potenciómetro PHM-85 Radiometer y un electrodo de vidrio Radiometer GK2401C con referencia interna.

A  $25^\circ\text{C}$  el potencial (mV) de la pila anterior viene dado por la ecuación de Nernst:

$$E = E^\circ + 59,16 \log h + j.h \quad [2]$$

donde  $E^\circ$  es el potencial estándar de la pila y  $j$  una constante relacionada con el potencial de difusión de unión líquida //.

Los experimentos se realizaron en dos etapas sucesivas. La primera etapa consiste en una titulación ácido-base fuerte en la

cual se determinan los valores de  $E^\circ$  y  $j$ . La segunda etapa es el experimento propiamente dicho.

Para el sistema  $H^+$ -aminoácido una vez culminada la primera etapa, se añadió una cantidad pesada del aminoácido y se tituló bien sea con ácido fuerte para estudiar la protonación, y con base fuerte para estudiar la disociación del aminoácido. Mientras que para el sistema  $H^+$ - $Be^{2+}$ -aminoácido, la segunda etapa consistió en añadir una cantidad pesada del aminoácido y una alícuota de la disolución madre de  $Be(II)$ ; por comodidad para la realización de las medidas se añadió una cantidad de base de concentración conocida hasta llegar a una zona cercana a la precipitación de  $Be(OH)_2$ , lo que restringió las medidas hasta un valor de  $pH < 6,2$  y posteriormente, esta mezcla fue titulada con ácido fuerte.

### Tratamiento de los datos

Los datos potenciométricos fueron analizados mediante el programa Nernst/Leta (24) una versión del programa de mínimos cuadrados generalizados Leta-grop (25).

Los datos experimentales se pueden expresar en términos de  $Z_C$  para el sistema  $H^+$ -aminoácido y  $Z_B$  para el sistema  $H^+$ - $Be^{2+}$ -aminoácido:

$$Z_C(pH, \mathbf{H}, \mathbf{HL}) \text{ ó } Z_B(pH, \mathbf{H}, \mathbf{B}, \mathbf{HL}) \quad [3]$$

donde  $Z_C$  y  $Z_B$  representan el número promedio de moles de protones disociados por mol de ligando ó metal respectivamente:

$$Z_B = (h - \mathbf{H} - k_w h^{-1}) / \mathbf{B} \quad [4]$$

$$Z_C = (h - \mathbf{H} - k_w h^{-1}) / \mathbf{HL} \quad [5]$$

donde  $\mathbf{H}$ ,  $\mathbf{B}$  y  $\mathbf{HL}$  representan las concentraciones analíticas de  $H^+$ ,  $Be^{2+}$  y aminoácido y las letras minúsculas representan las concentraciones en equilibrio, respectivamente.

El criterio de ajuste consiste en minimizar la función:

$$U = \hat{A} (Z - Z^*)^2 \quad [6]$$

donde,  $Z$  representa la función experimental bien sea  $Z_C$  o  $Z_B$  y  $Z^*$  una función teórica calculada para el sistema  $H^+$ -aminoácido según [7]:

$$Z_C^*(pH, \mathbf{H}, \mathbf{HL}, (p, r, \beta_{pr}))_{nk} \quad [7]$$

y para el sistema  $H^+$ -berilio(II)-aminoácido de acuerdo a [8]:

$$Z_B^*(pH, \mathbf{H}, \mathbf{B}, \mathbf{HL}, (p, q, r, \beta_{pr}))_{nk} \quad [8]$$

siendo  $nk$  el número de constantes de equilibrio.

La bondad del ajuste se aprecia al conseguir un modelo y valores de las respectivas constantes de equilibrio que den un menor valor de la dispersión  $\sigma(Z)$ :

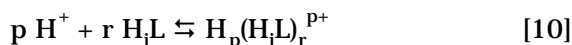
$$\sigma(Z) = (U / (n - nk))^{1/2} \quad [9]$$

donde  $n$  es el número de puntos

## 3. Resultados y Discusión

### Constantes de los aminoácidos

Los valores de las constantes de acidez de los aminoácidos  $\beta_{pr}$  corresponden a la siguiente ecuación general:



en la cual  $H_i L$  es la forma abreviada del aminoácido, siendo  $i = 1$  para la His e  $i = 2$  para la Cys. En la Tabla 1 se resumen los resultados obtenidos y en la Tabla 2 los respectivos valores de  $pK_i$ .

En las Figuras 1a y 2a se muestran los resultados en la forma de  $Z_C$  vs  $pH$  de la Cys y de la His, respectivamente y en las Figuras 1b y 2b se presentan los diagrama de dis-

Tabla 1

Constantes de acidez  $\text{Log } \beta_{p,r}$  de los aminoácidos Cys e His estudiados en  $\text{NaClO}_4$  3.0 M a  $25^\circ\text{C}$ .

Aminoácido	Nº exp/ Nº ptos	Intervalo pH	$\text{Log } \beta_{1,1}$	$\text{Log } \beta_{2,1}$	$\text{Log } \beta_{-1,1}$	$\text{Log } \beta_{-2,1}$	$\sigma(Z_c)$
Cys	4/199	1,8-11,4	2,409(6)		-8,662(4)	-19,363(6)	0,006
His	5/164	1,8-11,2	6,95(1)	9,32(1)	-9,55(1)		0,016

El nº entre paréntesis representa 3 veces la desviación estándar.

tribución de especies de ambos sistemas. Como es usual los puntos representan los valores experimentales y la línea de trazo continuo los valores calculados con las constantes de la Tabla 1.

Los valores obtenidos de las constantes de disociación de los aminoácidos están de acuerdo a los valores reportados en la bibliografía en el mismo medio iónico y temperatura (26)

Veamos que ocurre con la cisteína ( $\text{H}_2\text{L}$ ) que es un aminoácido que posee dos protones disociables. Este es un aminoácido similar a la serina con la diferencia que en lugar de un grupo OH contiene un grupo SH que puede perder un protón y formar el anión tiolato  $\text{S}^-$ . Hay que recordar que la forma oxidada de la cisteína es un compuesto denominado cistina, el cual consiste en dos moléculas de cisteína unidas por un puente disulfuro, que desempeñan un papel importante en la estabilización de las estructuras tridimensionales de algunas proteínas, al actuar como un entrecruzamiento covalente entre los residuos oxidados de cisteína en diferentes posiciones en las cadenas peptídicas (27).

En la Figura 1a se presentan los datos  $Z_c(\text{pH})$  de la Cys. Hay que recordar que partimos del aminoácido neutro y en esta gráfica se ve claramente que el aminoácido  $\text{H}_2\text{L}$  libera dos moles de protones secuencialmente, ya que a valores de  $\text{pH} \approx 9$  la función  $Z_c$  tiende a 1, lo que indica que la especie  $\text{H}_2\text{L}$  pierde un mol de protones para formar la especie  $\text{HL}^-$  y esta especie a su vez sufre una posterior disociación, ya que a valores de  $\text{pH} > 10$  la función  $Z_c$  tiende a 2, lo que indica que se ha formado

Tabla 2

Valores de  $\text{pK}_i$  de los aminoácidos estudiados en  $\text{NaClO}_4$  3.0 M a  $25^\circ\text{C}$ .

Aminoácido	$\text{pK}_1$	$\text{pK}_2$	$\text{pK}_3$
Cys	2,409(6)	8,662(4)	10,701(7)
His	2,37(1)	6,95(1)	9,55(1)

El nº entre paréntesis representa 3 veces la desviación estándar.

la especie  $\text{L}^{2-}$ , la cual predomina a valores de  $\text{pH} > 10$ . Por otra parte, igualmente a la glicina la especie  $\text{H}_2\text{L}$  puede reaccionar con un mol de protones para formar la especie protonada  $\text{H}_3\text{L}^+$ , es decir, que para valores de  $\text{pH} < 3$   $Z_c$  tiende a -1. En la Figura 1b se presenta el diagrama de distribución de especies para este sistema, en donde se destaca que la especie más importante en la zona de  $\text{pH}$  en la cual estudiamos la formación de complejos con el Be(II) es la especie  $\text{H}_2\text{L}$  que predomina entre los valores de  $\text{pH}$  4 y 7, mientras que la especie  $\text{HL}^-$  es la más importante entre los valores de  $\text{pH}$  9 y 10. Es evidente que la especie  $\text{H}_2\text{L}$  debe corresponder a la forma zwitteriónica del aminoácido, por lo cual el primer paso de disociación corresponde a la deprotonación del grupo SH, aunque dado que los dos procesos de deprotonación ocurren a valores de  $\text{pH}$  muy cercanos, probablemente este proceso ocurre simultáneamente con la deprotonación del grupo  $\text{NH}_3^+$ . Se piensa que tengamos en realidad una mezcla en la cual una parte corresponda a la deprotonación del grupo SH y la otra a la deprotonación del grupo  $\text{NH}_3^+$ , quedando el grupo SH protonado. Evidentemente en la especie  $\text{L}^{2-}$  los dos grupos pierden sus respectivos protones (28).

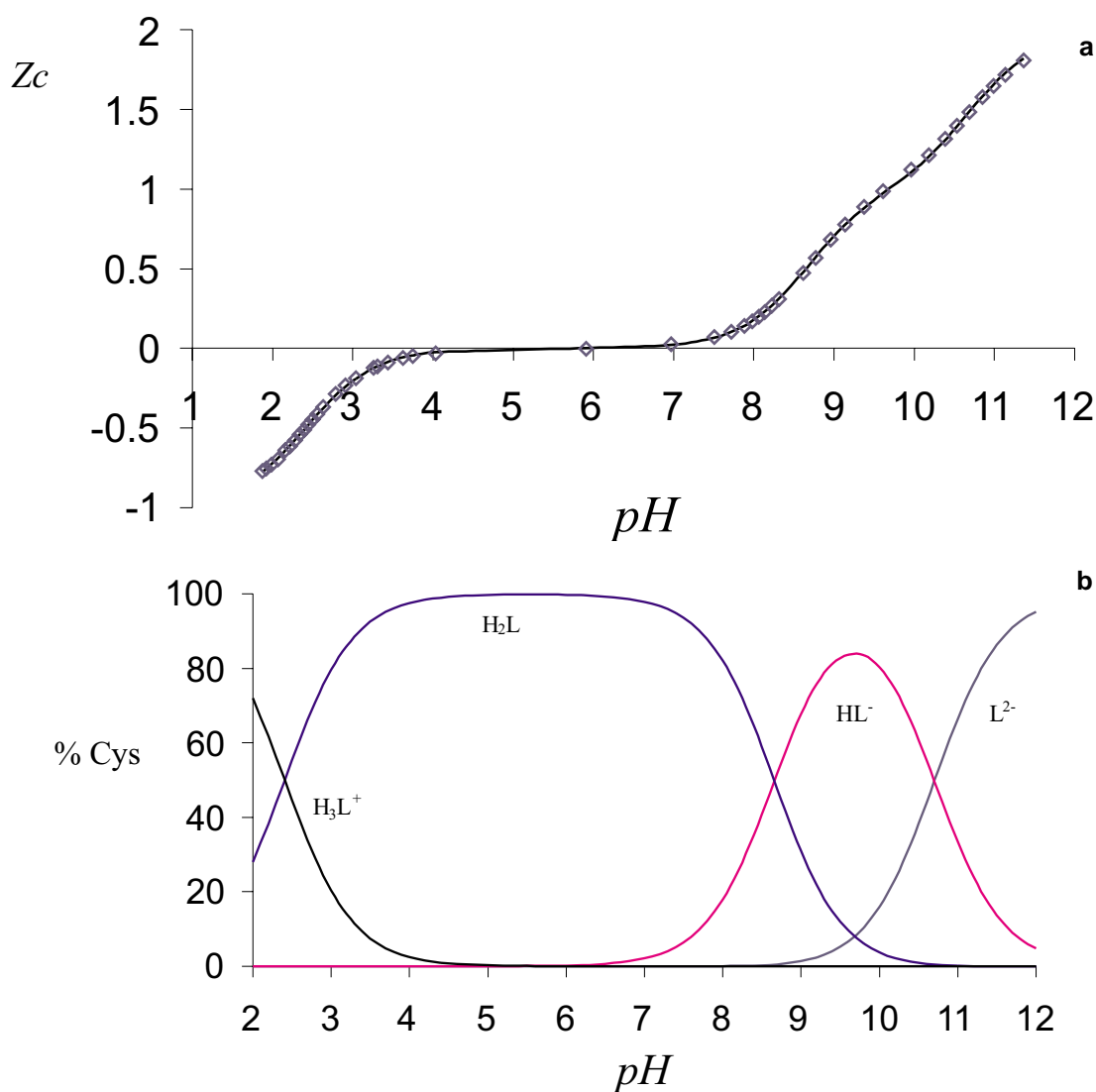


Figura 1. (a) Gráfico de  $Z_c$  vs  $pH$  y (b) diagrama de distribución de especies en función del  $pH$  de la Cys.

En la Figura 2a se muestra los datos  $Z_c(pH)$  de la His. Como partimos de la especie neutra HL, se nota que a valores de  $pH > 10$  la función  $Z_c$  tiende a 1, lo que indica que la especie HL pierde un mol de protones para formar la especie L; evidentemente esta especie (HL) corresponde a la especie zwitteriónica, por lo que este paso indica la disociación del grupo amino (29). Se logran distinguir claramente dos pasos de protonación, el primero en el cual la función  $Z_c$  tiende a -1, formado un *plateau* entre valores de

$pH$  6 y 4, lo que significa que la especie HL ha reaccionado con un mol de protones para formar la especie  $H_2L^+$ , la cual es la especie más importante en la zona de  $pH$  en la cual se estudia la formación de complejos con el ion Be(II). Este paso de protonación corresponde a la protonación del grupo imidazol. Y por último, el segundo paso de protonación en el cual la función  $Z_c$  tiende a -2 a valores de  $pH < 3$ , lo que indica la formación de la especie  $H_3L^{2+}$  en la cual tenemos todos los grupos protonados (29).

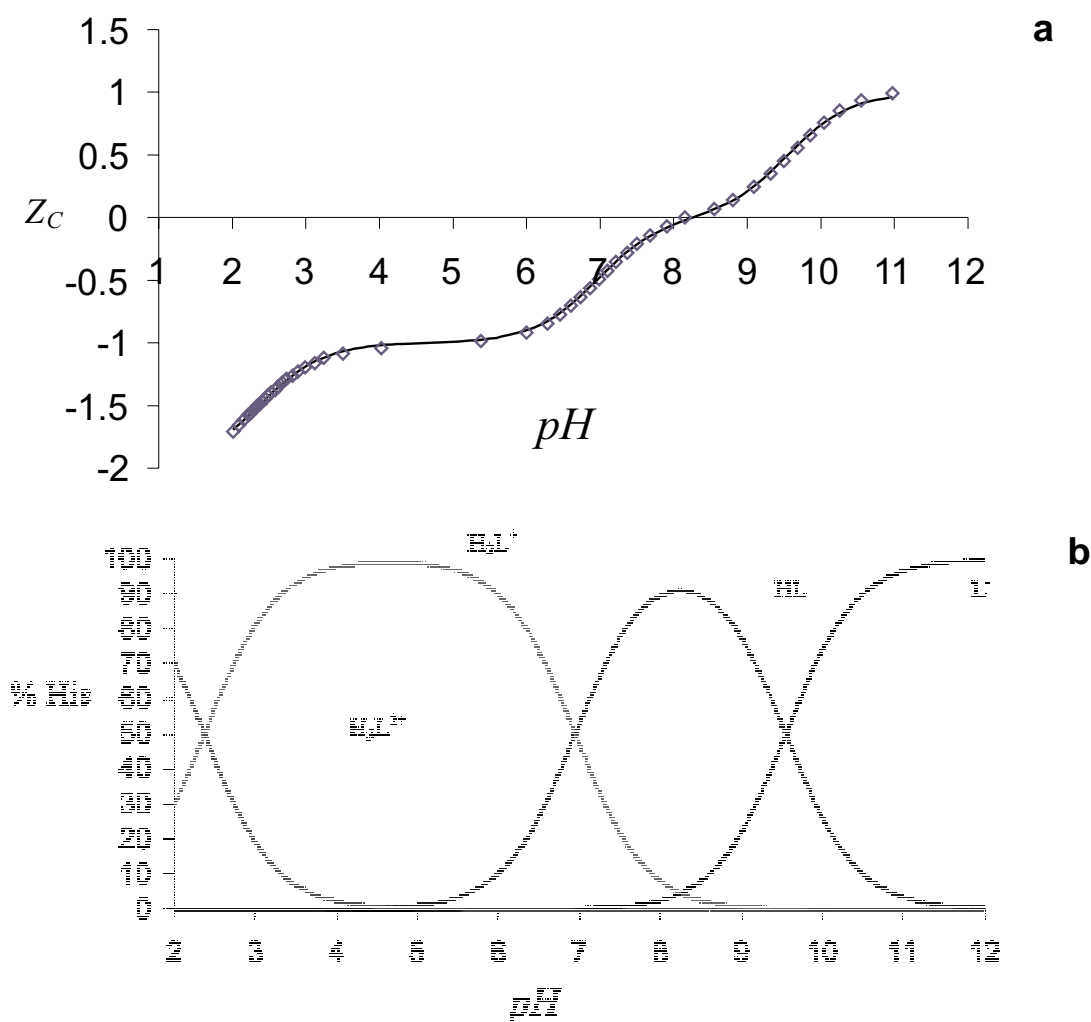
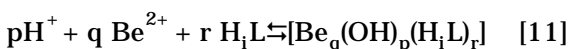


Figura 2. (a) Gráfico de  $Z_c$  vs  $pH$  y (b) diagrama de distribución de especies en función del  $pH$  de la His.

### Constantes de formación de los complejos de Be(II) con aminoácidos

Los valores de las constantes de formación  $\beta_{pqr}$  de los complejos de  $Be^{2+}$  con los aminoácidos estudiados vienen dados según la siguiente reacción general:



En la Tabla 3 se resumen las condiciones experimentales empleadas.

En la realización de los cálculos se considera el modelo de la hidrólisis del  $Be^{2+}$  pro-

puesto por Bruno (18) ( $NaClO_4$  3,0 M,  $25^\circ C$ ) cuyos valores de las constantes de equilibrio son mantenidos invariantes. Como se ha dicho antes, el criterio de ajuste consiste en encontrar la combinación de especies (p,q,r) y constantes de formación  $\beta_{pqr}$  que mejor ajusten los datos experimentales.

En la Figura 3 se puede apreciar los datos  $Z_b(pH)_r$  del sistema  $H^+-Be^{2+}-Cys$ , en el cual los puntos representan los valores experimentales y la línea de trazo continuo fue calculada suponiendo la formación de los complejos  $[BeH_2L]^{2+}$ ,  $[Be_3(OH)_3H_2L]^{3+}$  y

Tabla 3  
Condiciones experimentales empleadas en el estudio de los sistemas  $H^+$ - $Be^{2+}$ -aminoácidos

Aminoácido	N° exp/N° ptos	Intervalo de pH	B (mM)	R = (HL/B)
Cys	8/292	2,8-6,07	8	4,8,16
His	10/301	2-5,9	2,8	1,2,4

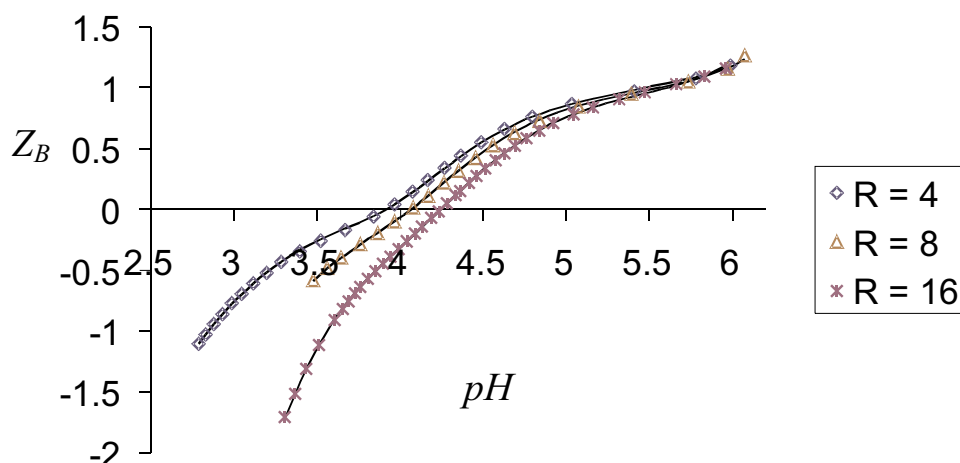


Figura 3. Datos  $Z_B(pH)_R$  del sistema  $H^+$ - $Be(II)$ -Cys.

$[Be(OH)_2HL]^-$  con los valores de las constantes de equilibrio dados en la Tabla 4.

En la Figura 4 se muestra el diagrama de distribución de especies del sistema  $H^+$ - $Be^{2+}$ -Cys para la relación  $R = 16$  y  $B = 8$  mM.

Considerando que la especie más importante de la Cys en la zona de  $pH$  en la cual se estudiaron los complejos con  $Be(II)$  es la especie *zwitteriónica* y que los valores de las constantes de formación de los complejos son del mismo orden de magnitud que los obtenidos con la Gly (Tabla 5) (30), se puede esperar un similar modo de coordinación en los complejos  $[Be(H_2L)]^{2+}$  y  $[Be_3(OH)_3(H_2L)]^{3+}$ . La Cys está coordinada por el grupo carboxílico en estos dos complejos y en el complejo  $[Be(OH)_2(HL)]^-$  el aminoácido posiblemente actúa como ligando bidentado, coordinándose tanto por el oxígeno carboxílico como por el átomo de nitrógeno del grupo amino, formando un anillo quelato de 5 miembros.

Tabla 4  
Constantes de formación ( $\text{Log } \beta_{pqr}$ ) del sistema  $H^+$ - $Be^{2+}$ -Cys.

$[Be(H_2L)]^{2+}$	$[Be_3(OH)_3(H_2L)]^{3+}$	$[Be(OH)_2(HL)]^-$	$\sigma(Z_B)$
1,26(1)	-6,99(1)	-16,06(2)	0,005

El n° entre paréntesis representa 3 veces la desviación estándar.

Todo esto se puede decir gracias a que los valores de las constantes de formación son muy similares (Tablas 4 y 5) y si además se toma en cuenta la teoría ácido-base de Pearson (31), formalmente hablando el  $Be(II)$  es un *ácido duro*, el átomo de S es una base blanda y la interacción *duro-blando* es la menos favorecida desde el punto de vista termodinámico, por lo que se descarta su participación en la formación de complejos con  $Be(II)$ .

Una de las razones principales que nos motivó a incluir a la Cys en este trabajo es



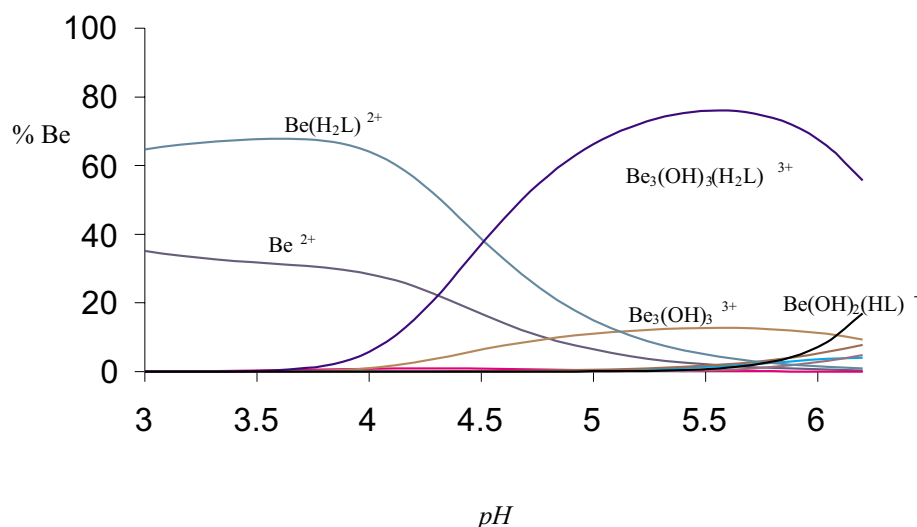


Figura 4. Diagrama de distribución de especies del sistema  $H^+$ -Be(II)-Cys para la relación  $R = 16$  y  $B = 8$  mM.

por la respuesta que tiene el cuerpo humano ante la entrada de metales tóxicos como  $Cd^{2+}$ ,  $Hg^{2+}$  y  $Pb^{2+}$ , que consiste en incrementar la síntesis de la metalotienina (28). Esta metaloproteína tiene un alto contenido de azufre y cerca de la tercera parte está constituida por cisteína, pero todo esto también es atribuido al hecho que estos metales son ácidos blandos y se enlazan muy bien al átomo de azufre de la cisteína; de allí su gran afinidad, lo que no se presenta con el Be(II).

En la Figura 5 se puede apreciar los datos  $Z_B(pH)_R$  del sistema  $H^+$ -Be<sup>2+</sup>-His, en la cual los puntos representan los valores experimentales y la línea de trazo continuo fue calculada suponiendo la formación de los complejos  $[BeH_2L]^{3+}$ ,  $[BeHL]^{2+}$ ,  $[Be_3(OH)_3(H_2L)]^{4+}$ ,  $[Be_3(OH)_3(HL)]^{3+}$  y  $[Be_3(OH)_3(HL)_2]^{3+}$  con los valores de las constantes de formación dados en la Tabla 6.

En la Figura 6 se muestra el diagrama de distribución de especies de este sistema para la relación  $R = 4$  y  $B = 8$  mM.

A diferencia de lo reportado por Bertin *et al.* (15), obtuvimos el mismo modelo a excepción del complejo  $[Be_3(OH)_3(HL)_3]^{3+}$ . Observamos que si incluíamos esta especie propuesta por estos autores en los cálculos,

Tabla 5  
Constantes de formación ( $\text{Log } \beta_{\text{pqr}}$ ) del sistema  $H^+$ -Be<sup>2+</sup>-Gly<sup>30</sup>

aminoácido	$[Be(HL)]^{2+}$	$[Be_3(OH)_3(HL)]^{3+}$	$[Be(OH)_2(L)]^-$
Gly	1,36(1)	-7,05(3)	-16,38(8)

El n° entre paréntesis representa 3 veces la desviación estándar.

no alcanzábamos el mejor ajuste. Hay que señalar que en el trabajo de Bertin *et al.* (15), el modelo de la hidrólisis del Be(II) que tomaron en cuenta fue el reportado Kakihana y Sillén(17), el cual no incluye a las especies  $[Be_5(OH)_6]^{4+}$  y  $[Be_6(OH)_8]^{4+}$ , que son importantes en la zona de  $pH$  donde este complejo presuntamente se formaría. En nuestro análisis consideramos el modelo hidrolítico propuesto por Bruno (18) y probablemente al considerar el modelo hidrolítico completo no pudimos detectar dicho complejo.

En el diagrama de distribución de especies de este sistema para la relación  $R = 4$  y  $B = 8$  mM, se distinguen como complejos más abundantes la especie  $[BeH_2L]^{3+}$ , que predomina a valores de  $pH < 4$  y la especie  $[Be_3(OH)_3(H_2L)]^{4+}$ , que es el complejo más importante a  $pH 5$ . En cuanto a las posibles estructuras de los complejos es de suponer

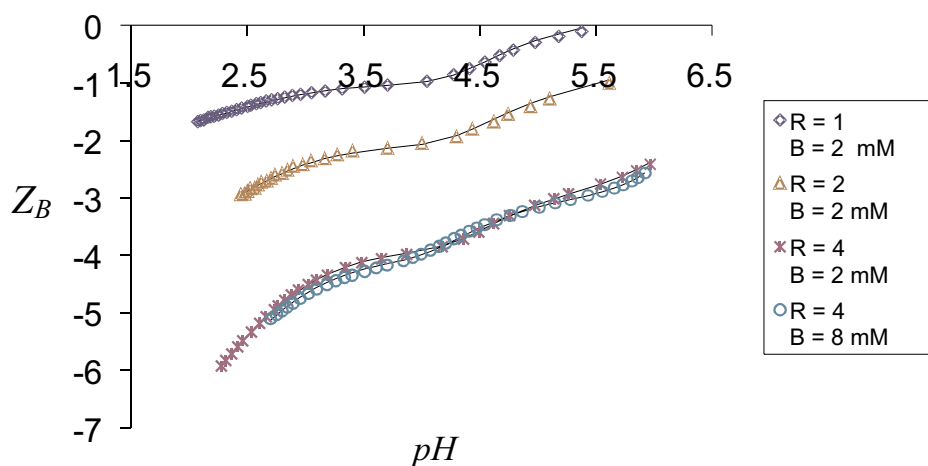


Figura 5. Datos  $Z_B(pH)_R$  del sistema  $H^+$ -Be(II)-His.

Tabla 6  
Constantes de formación ( $\text{Log } \beta_{pqr}$ ) del sistema  $H^+$ -Be<sup>2+</sup>-His

$[\text{Be}(\text{H}_2\text{L})]^{3+}$	$[\text{Be}(\text{HL})]^{2+}$	$[\text{Be}_3(\text{OH})_3(\text{H}_2\text{L})]^{4+}$	$[\text{Be}_3(\text{OH})_3(\text{HL})]^{3+}$	$[\text{Be}_3(\text{OH})_3(\text{HL})_2]^{3+}$	$\sigma(Z_B)$
8,598(4)	3,32(5)	0,535(8)	-6,19(8)	-3,39(3)	0,039

El n° entre paréntesis representa 3 veces la desviación estándar.

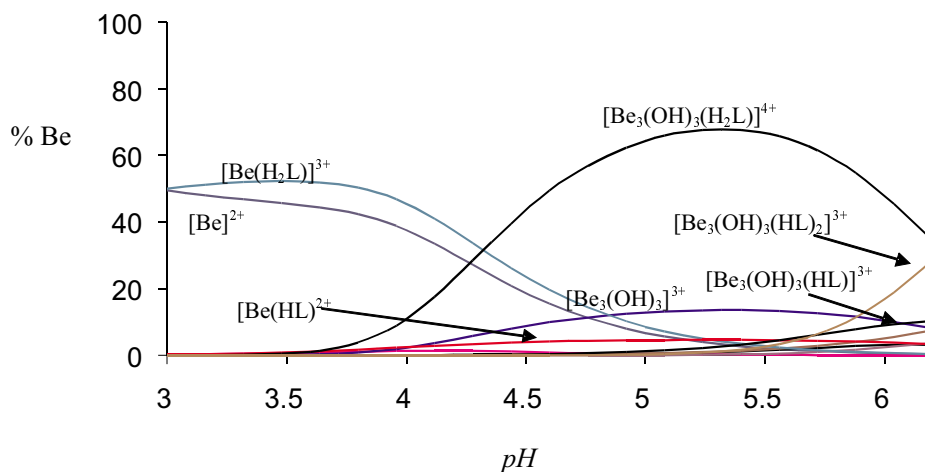


Figura 6. Diagrama de distribución de especies del sistema  $H^+$ -Be(II)-Cys para la relación  $R = 4$  y  $B = 8$  mM.

que en el complejo  $[\text{BeH}_2\text{L}]^{3+}$  el aminoácido esté coordinado a través del grupo carboxílico y tanto el grupo amino como el nitrógeno del grupo imidazol estén protonados. Igualmente, esperamos un similar modo de coor-

dinación del aminoácido con el trímero  $[\text{Be}_3(\text{OH})_3]^{3+}$  en el complejo  $[\text{Be}_3(\text{OH})_3(\text{H}_2\text{L})]^{4+}$ . Mientras que para el complejo  $\text{BeHL}^{2+}$  dado el elevado valor de su constante de formación comparada con la del complejo similar

de la glicina, nos hace pensar que la histidina está actuando como ligando bidentado en este complejo, coordinándose tanto por el átomo de oxígeno del grupo carboxílico, como por el átomo de nitrógeno del grupo imidazol. Todo esto se puede razonar si tomamos en cuenta la información obtenida por medio de medidas de  $emf(H)$  del complejo  $[Be_3(OH)_3L_3]$  (L = picolinato) (32) y por la estructura de rayos X (33), en el cual el ligando picolinato está coordinado tanto por el grupo carboxílico como por el átomo de nitrógeno del grupo piridínico, formando un anillo quelato de 5 miembros. Por ello esperamos un similar modo de coordinación con la His en este complejo y probablemente, en los complejos  $[Be_3(OH)_3(HL)]^{3+}$  y  $[Be_3(OH)_3(HL)_2]^{3+}$  el aminoácido también esté actuando como ligando bidentado, coordinándose a la unidad trimerica  $[Be_3(OH)_3]^{3+}$ , tanto por el grupo carboxílico como por el átomo de nitrógeno del grupo imidazol.

#### 4. Conclusiones

Se lograron determinar las constantes de formación de los complejos de Be(II) con los aminoácidos Cys e His. En el sistema  $H^+$ -Be(II)-Cys el modelo que mejor ajustó los datos experimentales incluye las especies  $[Be(H_2L)]^{2+}$ ,  $[Be_3(OH)_3(H_2L)]^{3+}$  y  $[Be(OH)_2HL]$ . Un análisis comparativo de este sistema con el sistema  $H^+$ -Be(II)-Gly, sugiere que la cisteína se liga de manera similar a la glicina, coordinándose a través del grupo carboxílico en los complejos  $[Be(H_2L)]^{2+}$  y  $[Be_3(OH)_3(H_2L)]^{3+}$  y probablemente se coordina a través de los grupos carboxílico y amino formando un anillo quelato de 5 miembros en el complejo  $[Be(OH)_2HL]$ .

Mientras que con el sistema  $H^+$ -Be(II)-His el modelo que mejor ajustó los datos experimentales esta formado por las especies  $[Be(H_2L)]^{2+}$ ,  $[BeHL]^{2+}$ ,  $[Be_3(OH)_3(H_2L)]^{4+}$ ,  $[Be_3(OH)_3(HL)]^{3+}$  y  $[Be_3(OH)_3(HL)_2]^{3+}$  siendo este modelo muy similar al anteriormente propuesto por Bertin *et al.* (15), a excepción del complejo

$[Be_3(OH)_3(HL)_3]^{3+}$ . Esta diferencia puede ser atribuida a los distintos modelos de la hidrólisis del ion Be(II) considerados en el análisis de los datos.

#### Agradecimientos

Agradecemos al CDCH por la subvención recibida (Proyecto PG 03.12.4645.2000). Vito Lubes quiere expresar su agradecimiento al CDCH, al Postgrado en Química, a DICORI y a la Red ALFA *Metales y Problemas Medio Ambientales* (Proyecto AL-RIB73011/94,04-5,02739) de la Unión Europea por la Pasantía de Estudios realizada en el Departamento de Química de la Universidad de Florencia (Italia) durante el año 2000.

#### Referencias

1. MC FARLAN D. *The Guinness book of Records*, Guinness Publishing, Londres (Inglaterra), pp 107, 1992.
2. WONG C.Y., WOOLLINS J.D. *Coord Chem Rev* 130: 243-273, 1994.
3. STANGE A., HILMAS W., FURMAN D. E. *Toxicology* 111: 213-224, 1996.
4. SKILLETER D. *Chem Br* 26: 26-30, 1990.
5. SEIDEL A. *in Gmelin Handbook of Inorganic Chemistry*, volumen A.1, Springer, 8ª Ed, Berlin (Alemania), pp. 300, 1986.
6. DA SILVA J.J.R.F., WILLIAMS R.J.P. *The Biological Chemistry of the Elements. The Inorganic Chemistry of the Life*, Clarendon Press, Oxford (Inglaterra), Cap 22 y 24, 1991.
7. CHINEA E., DOMÍNGUEZ S., MEDEROS A., BRITO F., ARRIETA J.M., SÁNCHEZ A., GERMAIN G. *Inorg Chem* 34: 1579-1587, 1995.
8. KUMBERGER O., RIEDE J., SCHMIDBAUR H. *Z. Naturforsch* 47b: 1717-1725, 1992.
9. BAES C., MESMER R. *The Hydrolysis of Cations*, John Wiley, New York (USA), pp 88-95, 1976.
10. AKITT J.W., DUNCAN R.H. *J Chem Soc Faraday Trans I* 76: 2212-2220, 1980.

11. PERKINS D.J. *Biochem J* 51: 487-490, 1952.
12. PERKINS D.J. *Biochem J* 55: 649-652, 1953.
13. SÓVAGO I., KISSANDT., GERGELY A. *Pure Appl Chem* 65: 1029-1080, 1993.
14. CHAWLA I.D., ANDREWS A.C. *J Inorg Nucl Chem* 32(1): 91-99, 1970.
15. BERTIN F., THOMAS-DAVID G., DUC G. *Bull Soc Chim Fr* (3-4):414-416, 1976.
16. BERTIN F., THOMAS G., MERLIN J.C. *Bull Soc Chim Fr* 2: 393-398, 1967.
17. KAKIHANA H., SILLÉN L.G. *Acta Chem Scand* 10: 985-998, 1956.
18. BRUNO J. *J Chem Soc Dalton Trans* 2431-2437, 1987.
19. THOMAS MYALDRIDGE W. *Biochem J* 98: 94-99, 1966.
20. HURÉ J., KREMER M., BEQUER F. *Anal Chim Acta* 7: 37-42, 1952.
21. PRIBIL R. *Analytical applications of EDTA and Related Compounds*, Pergamon Press, Braunschweig (Alemania), 1972.
22. GRAN G. *Analyst* 77: 661-671, 1951.
23. CHARLOT G. *Methods d'Analyse Quantitative Mineral*, Masson, Paris (Francia), 1949.
24. BRITO F., GONCALVES J. Proyecto n° 51, 78-31-51-1228, CONICIT. Caracas, Venezuela, 1981.
25. ARNEK R., SILLÉN L.G., WARNQVIST B. *Arkiv Kemi* 31: 341-352, 1969.
26. MARTELL A.E., SMITH R.M., MOTEKAITIS R.J. *NIST Critical Stability Constants of Metal Complexes Database*, US Department of Commerce, Gaithersburg, MD, 1993.
27. HORTHON R., MORAN L., OCHS R., RAWN D., SCRINGEOUR G. *Bioquímica*, Prentice Hall, México. Cap. 3, pp. 1-229, 1995.
28. BERTHON G. *Pure y Appl Chem* 67: 1117-1240, 1995.
29. BUKIETYNSKA K., KARWECKA Z., PODSIADLY H. *Polyhedron* 15: 2613-2619, 1997.
30. LUBES V., BRITO F., ARAUJO M.L., VACCA A., MIDOLLINI S., MEDEROS A. *CIENCIA* 10(4): 404-418, 2002.
31. HUHEEY J.E. *Química Inorgánica: Principios de Estructura y Reactividad*, 2<sup>da</sup> Edición, Harla, México, pp. 305-311, 1981.
32. BERTIN F., THOMAS-DAVID G. *Bull Soc Chim Fr* 1255-1265, 1968.
33. FAURE P., BERTIN F., LOISELEUR H., THOMAS-DAVID G. *Acta Crystallogr Sec B* 30: 462-466, 1974.