

# Complejos de Berilio(II) en Solución Acuosa con Aminoácidos. Parte 1: Complejos de Be(II) con Glicina y sus Análogos

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 Energetica di 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: 30-07-02

## Resumen

Las especies complejas formadas en solución acuosa entre berilio(II) y Glicina (Gly),  $\alpha$ -Alanina ( $\alpha$ -Ala),  $\beta$ -Alanina ( $\beta$ -Ala), L-Leucina (Leu), L-Isoleucina (Ile), D,L-Serina (Ser), L-Treonina (Thr), D,L-Fenilalanina (Phe) y D,L-Metionina (Met) 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 experimentales, tomando en consideración la hidrólisis del ion berilio(II), variando la relación ligando-metal (*R*), indica la formación en cantidades significativas de los complejos BeHL<sup>2+</sup>, Be<sub>3</sub>(OH)<sub>3</sub>HL<sup>3+</sup> y Be(OH)<sub>2</sub>L<sup>-</sup> (aminoácidos, HL) para todos los sistemas estudiados. Las constantes de formación  $\beta_{pqr}$  fueron determinadas. Los estudios de <sup>1</sup>H RMN confirman los resultados de los estudios potenciométricos.

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

## Beryllium(II) Complexes in Aqueous Solution with Amino Acids. Part 1: Be(II) Complexes with Glycine and its Analogous

### Abstract

The complex species formed in aqueous solution between beryllium(II) and Glycine (Gly),  $\alpha$ -Alanine ( $\alpha$ -Ala),  $\beta$ -Alanine ( $\beta$ -Ala), L-Leucine (Leu), L-Isoleucine (Ile), D,L-Serine (Ser), L-Threonine (Thr), D,L-Phenylalanine (Phe) and D,L-Methionine (Met) 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 data, taking into account hydrolysis of beryllium(II) ion, upon varying the ligand-metal ratios (*R*), indicates the complexes BeHL<sup>2+</sup>, Be<sub>3</sub>(OH)<sub>3</sub>HL<sup>3+</sup> and Be(OH)<sub>2</sub>L<sup>-</sup> (aminoacids, HL) are formed in significant amounts for all the systems studied.

\* Autor para la correspondencia. E-mail: vitolubes@hotmail.com, lubesv@pdvsa.com, fbrito@strix.ciens.ucv.ve

The formation constants  $\beta_{pqr}$  were determined.  $^1\text{H}$  RMN studies confirm the results of the potentiometric studies.

**Keywords:** Amino acids; Be(II) complexes; especiación; solution equilibria; stability constants.

## 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 sola-

mente 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 respecto 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. 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 ligando. 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.

Bertin *et al.* (14) estudiaron los sistemas Be(II)-glicina y Be(II)- $\beta$ -alanina, reportando la formación de los complejos  $\text{BeHL}^{2+}$ ,  $\text{Be}_3(\text{OH})_3(\text{HL})^{3+}$ ,  $\text{Be}_3(\text{OH})_3(\text{HL})_2^{3+}$  y  $\text{Be}_3(\text{OH})_3\text{L}^{2+}$  en ambos sistemas y el complejo adicional  $\text{Be}_2(\text{OH})(\text{HL})_2^{3+}$ , que se formaría con la glicina. Ellos suponen que estos aminoácidos actúan como ligandos monodentados, donde el átomo de oxígeno es el grupo donador de electrones, y únicamente con el complejo  $\text{Be}_3(\text{OH})_3\text{L}^{2+}$ , los aminoácidos actúan como ligandos bidentados.

Mederos *et al.* (15) estudiaron los complejos de Be(II) con los aminoácidos D,L-metionina y D,L-ácido aspártico mediante medidas de *emf(H)* en  $\text{NaClO}_4$  0.5 M a  $25^\circ\text{C}$ ,

proponiendo la formación de un único complejo  $\text{Be}(\text{OH})_2\text{L}$  y  $\text{Be}(\text{OH})_2\text{L}^{2-}$ , respectivamente, a  $\text{pH} > 5,5$ .

Posteriormente, Mederos *et al.* (16) realizaron un estudio de los complejos de Be(II) con los aminoácidos glicina,  $\alpha$ -alanina,  $\beta$ -alanina, fenilalanina, y ácido glutámico mediante medidas de  $\text{emf}(H)$  en  $\text{NaClO}_4$  0.5 M ( $M = \text{mol}\cdot\text{dm}^{-3}$ ) a  $25^\circ\text{C}$ , así como en estas mismas condiciones, pero usando el disolvente mixto DMSO:agua (80:20 p/p), con los aminoácidos glicina,  $\alpha$ -alanina,  $\beta$ -alanina, fenilalanina, metionina, ácido glutámico y ácido aspártico. Los datos fueron analizados considerando en cada caso la formación de los distintos productos de hidrólisis del Be(II) en agua y DMSO: agua (17, 18). En disolución acuosa reportaron la formación de los complejos  $\text{BeL}^+$  y  $\text{Be}_3(\text{OH})_3\text{L}^{2+}$  con la glicina,  $\alpha$ -alanina,  $\beta$ -alanina, fenilalanina y los complejos  $\text{BeHL}^+$  y  $\text{BeL}$  con el ácido glutámico. En el disolvente mixto encontraron los complejos  $\text{BeHL}^{2+}$ ,  $\text{BeL}^+$ ,  $\text{Be}(\text{OH})\text{L}$  y  $\text{Be}(\text{OH})_2\text{L}$  con glicina,  $\alpha$ -alanina,  $\beta$ -alanina, fenilalanina y metionina, y los complejos  $\text{BeH}_2\text{L}^{2+}$ ,  $\text{BeHL}^+$ ,  $\text{BeL}$ ,  $\text{Be}(\text{OH})\text{L}$  y  $\text{Be}(\text{OH})_2\text{L}^{2-}$  con los ácidos glutámico y aspártico. Los aminoácidos glicina,  $\alpha$ -alanina, fenilalanina y metionina forman anillos quelatos de cinco miembros, donde el nitrógeno y el oxígeno actúan como grupos donantes de electrones en el complejo  $\text{BeL}^+$ , mientras que la  $\beta$ -alanina forma anillos de seis miembros. Para ambos disolventes el orden de estabilidad para el complejo  $\text{BeL}^+$  es el siguiente:  $\alpha$ -alanina >  $\beta$ -alanina > glicina > fenilalanina, como era de esperar, ya que los anillos quelatos de seis miembros son más estables para el Be(II) (7). También, observaron que el complejo  $\text{BeL}^+$  es más estable en el disolvente mixto que en disolución acuosa, probablemente debido a que los aminoácidos son ácidos más débiles en el disolvente mixto.

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 glicina (Gly),  $\alpha$ -alanina ( $\alpha$ -Ala),  $\beta$ -alanina ( $\beta$ -Ala), D,L-fenilalanina (Phe), L-leucina (Leu), L-isoleucina (Ile), D,L-serina (Ser), L-treonina (Thr), D,L-metionina (Met) fundamentalmente por medio de medidas de  $\text{emf}(H)$  y de RMN con el objetivo de obtener mayor información acerca de la especiación química de estos sistemas en solución.

## 2. Materiales y Métodos

### Reactivos

Los aminoácidos Gly, Phe, Met, Thr (Merck p.a.),  $\alpha$ -Ala (Alfa > 99%),  $\beta$ -Ala (Aldrich p.a.), Ser, Ile, Leu (BDH > 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 unas 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  $N_2$  (GIV) dentro del vaso de reacción, el cual consiste en un recipiente de paredes dobles que es mantenido a  $25^\circ C$  haciendo circular agua termostatzada en las paredes externas del reactor.

Las medidas de  $emf(H)$  se realizaron empleando un potenciómetro PHM-85 Radiometer y utilizando un electrodo de vidrio Radiometer GK2401C con referencia interna.

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.

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

$$E = E^\circ + 59,161 \log h + j \cdot h \quad [2]$$

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  $j$ ) y 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 concentra-

ción conocida hasta llegar a una zona cercana a la precipitación de  $Be(OH)_2$ , lo que restringió nuestras medias hasta un valor máximo 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:

$$U = \sum (Z - Z^*)^2 \quad [6]$$

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.

### Mediadas de RMN

Las medidas de RMN se llevaron a cabo en agua deuterada (Aldrich); los aminoácidos Gly,  $\beta$ -Ala y el  $\text{BeSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  fueron productos Merck p.a. los cuales fueron empleados sin mayor purificación. Se reguló la acidez añadiendo pequeñas cantidades de  $\text{D}_2\text{SO}_4$  ó de NaOD de concentración elevada (Aldrich).

Los espectros de  $^9\text{Be}$  RMN fueron medidos en un espectrómetro Bruker AC 200 a 28.18 MHz y los espectros de  $^1\text{H}$  a 200 MHz con el mismo equipo. Los desplazamientos químicos de  $^9\text{Be}$  son relativos al estándar externo  $\text{BeSO}_4$  0,1 M. Los desplazamientos químicos de  $^1\text{H}$  se dan relativos al estándar externo TMS. Los valores de  $pD$  fueron medidos empleando un pHmetro Orion modelo

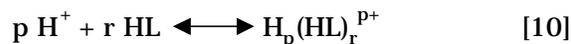
601 I, equipado con un microelectrodo combinado Ingold.

Se prepararon por pesada diversas soluciones del aminoácido libre y de la mezcla Be(II)-aminoácido en  $\text{D}_2\text{O}$  y se ajustó el  $pD$  añadiendo pequeñas cantidades de  $\text{D}_2\text{SO}_4$  ó NaOD concentrados.

## 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 Tabla 1 se resumen los resultados obtenidos y sus respectivos valores de  $pK_p$ , los cuales están de acuerdo a los valores reportados en la bibliografía en el mismo medio iónico y temperatura (26).

En la Figura 1a se muestra los resultados en la forma de  $Z_c$  vs  $pH$  de la Gly. Los puntos representan los valores experimentales y la línea de trazo continuo los valores calculados dados en la Tabla 1. En la Figura

Tabla 1

Constantes de acidez  $\text{Log } \beta_{p,r}$  y valores de  $pK_i$  de los aminoácidos HL estudiados en  $\text{NaClO}_4$  3,0 M a  $25^\circ\text{C}$

Aminoácido	N° titu/ N° ptos	Intervalo pH	$\text{Log }_{1,1} (= pK_1)$	$\text{Log }_{-1,1} (= -pK_2)$	$\sigma(Z_c)$
Gly	4/130	1,8-11,2	2,85(1)	-10,24(1)	0,01071
$\beta$ -Ala	4/119	1,8-11,2	4,19(1)	-10,782(8)	0,00757
$\alpha$ -Ala	2/86	1,9-11,5	2,87(1)	-10,26(1)	0,0086
Leu	2/86	1,9-11,6	2,85(1)	-10,13(1)	0,00734
Ile	2/87	1,7-11,4	2,88(1)	-10,12(1)	0,00759
Phe	3/126	2,0-11,8	2,66(1)	-9,58(1)	0,00884
Met	4/125	2,0-11,0	2,74(1)	-9,64(1)	0,00768
Ser	4/133	1,8-11,8	2,57(1)	-9,51(1)	0,00683
Thr	3/99	1,9-11,7	2,59(1)	-9,42(1)	0,00706

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

1b se muestra diagrama de distribución de especies.

La Figura 1a muestra un conjunto de datos  $Z_c(pH)$  típico de los aminoácidos Gly y sus análogos  $\alpha$ -Ala,  $\beta$ -Ala, Leu, Ile, Phe, Ser, Thr, Met. Como estamos partiendo del aminoácido neutro, podemos ver claramente que a valores de  $pH > 10$   $Z_c$  tiende a 1, lo que indica que se ha liberado un mol de protones del ligando HL para formar la especie L<sup>-</sup>. Igualmente, se puede apreciar que para valores de  $pH < 3$  la función  $Z_c$  tiende a -1, lo que indica que el aminoácido HL ha reaccionado con un mol de protones para formar la especie  $H_2L^+$ . Hay que destacar que aunque la Ser y la Thr poseen en su cadena lateral un grupo OH, la disociación del mismo en solución acuosa ocurre en un rango de  $pH$  que no es accesible para las medidas que se realizan con un electrodo de vidrio. Por lo que estos aminoácidos se comportan de manera similar a la glicina. Sin embargo, como podemos apreciar en la Tabla 1 estos aminoácidos se comportan como ácidos más fuertes que la  $\alpha$ -Ala, debido al efecto inductivo de los sustituyentes OH. No obstante, con la Ser está reportado en la bibliografía la disociación del grupo OH para coordinarse al Cu(II) (27, 28).

En la Figura 1 b se puede observar el diagrama de distribución de especies de la glicina, el cual es similar para todos los aminoácido HL que se describieron anteriormente. Como se puede apreciar la forma monoprotónada HL, la cual se encuentra fundamentalmente bajo la forma switteriónica (29), en la región de  $pH$  en la cual predominan los complejos con el Be(II) con aminoácidos como veremos más adelante.

Para los aminoácidos HL estudiados (Gly,  $\alpha$ -Ala,  $\beta$ -Ala, Leu, Ile, Phe, Met, Ser y Thr) el  $pK_1$  corresponde a la disociación del grupo carboxílico y el  $pK_2$  a la disociación del grupo amino. Si se observan los valores de las constantes de acidez ( $pK_i$ ), éstos son más bajos que la de los ácidos carboxílicos típicos, como por ejemplo, el ácido acético ( $pK_a = 4,8$ ). Esto es

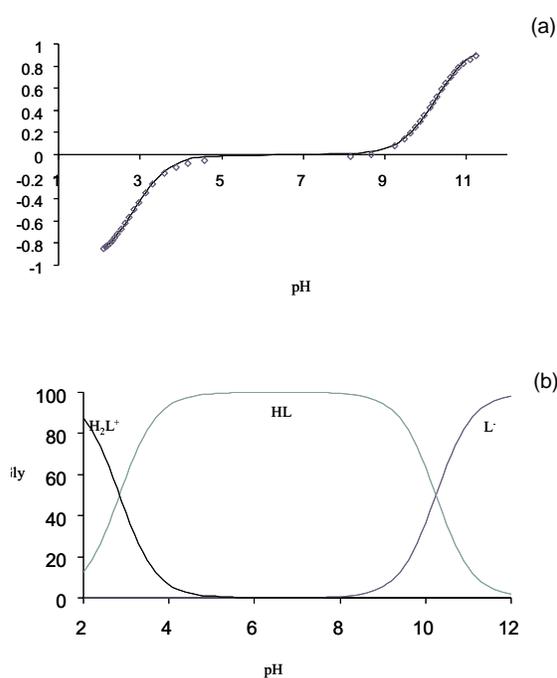


Figura 1a Gráfico de  $Z_c$  vs  $pH$  y 1b. Diagrama de distribución de especies en función del  $pH$  de la Gly.

debido al efecto inductivo del grupo amino sobre el grupo carbonilo. Mientras que con la inclusión de un grupo metilénico  $-CH_2-$  entre los grupos  $NH_2$  y  $COOH$ , aumenta la separación entre los mismos, disminuyendo así el efecto de grupo amino sobre la disociación del ácido carboxílico, lo que ocurre con la  $\beta$ -Ala, la cual comienza a tener valores similares a los ácidos carboxílicos simples.

Las propiedades físicas de los aminoácidos son influidas por los estados iónicos de los grupos  $\alpha$ -carboxílico,  $\alpha$ -amino y cualquier grupo ionizable de la cadena lateral. Las diferencias entre los valores de los  $pK_i$  de los aminoácidos, hace que éstos a un valor de  $pH$  específico tengan cargas netas diferentes. Aún pequeñas diferencias de las cargas netas sobre los aminoácidos y proteínas pueden ser aprovechadas para separarlos y purificarlos. Los estados iónicos de las cadenas laterales de los aminoácidos influyen mucho en las es-

estructuras tridimensionales y en las funciones bioquímicas de las proteínas. En particular, varios residuos de aminoácidos ionizables participan en la catálisis por enzimas; por ello es importante conocer las propiedades iónicas de los aminoácidos para entender los mecanismos enzimáticos.

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

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



En la Tabla 2 se resumen las condiciones experimentales empleadas.

En la realización de los cálculos se considera el modelo de la hidrólisis del  $\text{Be}^{2+}$  propuesto por Bruno (17) ( $\text{NaClO}_4$  3,0 M,  $25^\circ\text{C}$ ) 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 Tabla 3 se muestran los valores de la dispersión  $\sigma(Z_B)$  para diversas combinaciones de complejos (p,q,r) del sistema  $\text{H}^+ - \text{Be}^{2+} - \text{Gly}$ . El

nº entre paréntesis indica 3 veces la desviación estándar.

En la Figura 2 se muestra como ejemplo los datos  $Z_B(\text{pH})_R$  del sistema  $\text{H}^+ - \text{Be}^{2+} - \text{Gly}$ , en la cual los puntos representan los valores experimentales y la línea de trazo continuo fue calculada suponiendo la formación de los complejos  $\text{BeHL}^{2+}$ ,  $\text{Be}_3(\text{OH})_3\text{HL}^{3+}$  y  $\text{Be}(\text{OH})_2\text{L}^-$ , con los valores de las constantes de equilibrio dados en la Tabla 4.

En la Tabla 4 se resumen los valores de las constantes de formación de los complejos de  $\text{Be}^{2+}$  con los aminoácidos Gly,  $\alpha$ -Ala,  $\beta$ -Ala, Leu, Ile, Phe, Met, Ser, Thr.

En las Figuras 3a y 3b se muestran los diagramas de distribución de especies del sistema  $\text{H}^+ - \text{Be}^{2+} - \text{Gly}$  para la relación  $R = 16$  y  $\mathbf{B} = 8$  mM y para la relación  $R = 2$  y  $\mathbf{B} = 8$  mM.

Consideremos el análisis de los datos  $Z_B(\text{pH})$  del sistema  $\text{H}^+ - \text{Be}(\text{II}) - \text{Gly}$ , Figura 2. Al realizar el tratamiento de los datos de  $\text{emf}(\text{H})$  se evaluaron todos los complejos posibles, tomando en consideración que bajo la zona de  $\text{pH}$  en la cual se realizaron los experimentos, la forma predominante del aminoácido es la especie switteriónica (29), por lo que se hizo especial énfasis en los complejos  $\text{BeHL}^{2+}$  y  $\text{Be}_3(\text{OH})_3\text{HL}^{3+}$  anteriormente propuestos por Bertin (14). Se consideró también el modelo

Tabla 2  
Condiciones experimentales empleadas en los estudios de los sistemas  $\text{H}^+ - \text{Be}^{2+} - \text{aminoácidos}$

Aminoácido	Nº titu/Nº ptos	Intervalo de pH	B (mM)	R = (HL/B)
Gly	13/468	2,8-6,1	8	1, 2, 4, 8, 16
$\beta$ -Ala	13/475	2,2-6,05	8	1, 2, 4, 8, 16
$\alpha$ -Ala	6/205	3,7-6,1	8	8, 16
Leu	6/209	3,4-6,07	8	4,8
Ile	6/207	3,4-3,03	8	4,8
Phe	2/290	2,2-5,8	8	1, 2, 4
Met	6/217	3,6-6,05	8	8, 16
Ser	9/372	2,2-6,05	8	4,8,16
Thr	15/426	2,2-6,05	8	1,2,4,8,16

Tabla 3  
Valores de  $\log \beta_{pqr}$  en función de la  $\sigma(Z_B)$  para distintas combinaciones de complejos (p,q,r) del sistema  $H^+ - Be^{2+} - Gly$

BeHL <sup>2+</sup>	BeL <sup>+</sup>	BeL <sub>2</sub>	Be <sub>3</sub> (OH) <sub>3</sub> (HL) <sup>3+</sup>	Be <sub>3</sub> (OH) <sub>3</sub> (HL) <sub>2</sub> <sup>3+</sup>	Be <sub>3</sub> (OH) <sub>3</sub> L <sup>2+</sup>	Be <sub>2</sub> (OH)(HL) <sub>2</sub> <sup>3+</sup>	Be(OH) <sub>2</sub> L <sup>-</sup>	$\sigma(Z_B)$
0,93(2)	-3,91(6)							0,02374
1,19(1)	-3,96(9)		-7,59(5)					0,02243
1,27(1)			-7,52(5)	-6,8(1)				0,02280
1,19(1)			-7,48(4)		0			0,02309
1,17(1)			-7,48(4)			-0,99 máx -0,6		0,02214
1,24(1)			-7,41(4)	-7,3 máx -7,0		-0,8 máx -0,5		0,02207
1,28(3)			-7,40(9)	-7,0 máx -6,7	0			0,04865
1,27(1)	-4,3(2)		-7,46(4)	-7,1(2)				0,02221
1,27(1)		-9,4(2)	-7,41(5)	-6,8(1)				0,02347
1,28(3)	-4,3 máx -4,0	-9,8 máx -9,4	-7,36(8)					0,04845
1,25(1)			-7,38(4)	-7,3 máx -7,0	-14,9 máx -14,3	-0,8 máx -0,5		0,02206
1,27(1)	-4,1(1)		-7,51(5)	-7,1(2)		0		0,02312
1,21(1)	-3,86(7)	-9,3(1)	-7,46(4)					0,02140
1,25(1)	-3,94(9)	-9,2(1)	-7,46(1)	-6,9(1)				0,02115
1,18(1)			-7,38(3)			-1,0 máx -0,7	-16,6(1)	0,02127
1,20(1)	-4,3(2)		-7,47(4)				-16,8(2)	0,02213
1,19(1)		-9,8 máx -9,6	-7,44(4)				-17,0 máx -16,8	0,02219
1,24(1)			-7,37(4)					0,02208
1,36(1)			-7,05(3)				-16,38(8)	0,02073

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

propuesto por Mederos *et al.* (16) a saber: BeL<sup>+</sup> y Be<sub>3</sub>(OH)<sub>3</sub>L<sup>2+</sup>, sin obtener resultados satisfactorios. Finalmente, se incluye el complejo Be(OH)<sub>2</sub>L<sup>-</sup> como único complejo propuesto por Mederos *et al.* (15) en el sistema H<sup>+</sup>-Be(II)-Met. Es necesario destacar que en el trabajo de Bertin *et al.* (14) el modelo de la hidrólisis del Be(II) considerado en sus análisis fue el propuesto por Kakihana y Sillén, (30) el cual no considera las especies hidrolíticas Be<sub>5</sub>(OH)<sub>6</sub><sup>4+</sup> y Be<sub>6</sub>(OH)<sub>8</sub><sup>4+</sup> que fueron reportados por Bruno (17).

Debe destacarse que para todos los aminoácidos HL (Gly,  $\alpha$ -Ala,  $\beta$ -Ala, Leu, Ile, Phe, Met, Ser y Thr) el modelo que mejor ajustó los datos experimentales incluye los complejos Be(HL)<sup>2+</sup>, Be<sub>3</sub>(OH)<sub>3</sub>(HL)<sup>3+</sup> y Be(OH)<sub>2</sub>L<sup>-</sup>, cuyos los valores de las constantes de formación  $\beta_{pqr}$  se resumen en la Tabla 4.

Es importante señalar que la Ser y la Thr a pesar de tener en su cadena lateral un grupo OH, que eventualmente podría participar como punto de coordinación con el be-

rilio, tal como había propuesto Silletter (4), suponiendo uno de los posibles mecanismos de inhibición enzimática del berilio por quelación, en el cual el metal podría coordinarse con un grupo carboxílico de una cadena lateral, bien sea del ácido aspártico ó del ácido glutámico y del grupo OH de la serina. Los resultados obtenidos tanto para la Ser como con la Thr y también con la Met indican que estos aminoácidos se coordinan de manera similar a la glicina.

En la Figura 3a y 3b se presentan los diagramas de distribución de especies de los sistemas  $H^+$ -Be(II)-Gly, siendo esta una muestra representativa de los sistemas  $H^+$ -Be(II)-HL. Para la relación  $R = 16$ , se ve que los complejos  $BeHL^{2+}$  y  $Be_3(OH)_3HL^{3+}$  se forman en cantidades apreciables y el complejo  $Be(OH)_2L^-$  se forma en pequeñas cantidades en estas condiciones a valores de  $pH > 5,8$ , en la región cercana a la precipitación del  $Be(OH)_2(s)$ . Mientras que a bajos valores de  $R$ , la formación de los complejos principales es más baja y como se puede notar, la hidrólisis es considerable y la especie  $Be(OH)_2L^-$  no se observa bajo estas condiciones.

Piispanen y Lajunen (31) realizaron un estudio mediante medidas de  $emf(H)$  de los complejos de Be(II) con los ligandos glicolato, lactato y 2-hidroxiisobutirato, reportando la formación de los complejos  $BeL^+$ ,  $Be_3(OH)_3L^{2+}$  y  $BeL_2$ . En la Tabla 5 se resumen los resultados obtenidos por estos autores. También tomamos en cuenta las constantes de formación de los complejos de Be(II) con los ligandos monocarboxilatos, que se encuentran resumidos en la Tabla 6. (32, 40, 42). Con lo que se destaca que con los aniones derivados de los ácidos monocarboxílicos se coordinan débilmente con el Be(II). Probablemente en todos estos complejos los ligandos actúan como ligandos monodentados. La posibilidad de quelación usando ambos átomos de oxígeno del grupo carboxílico es descartada, tanto por la gran restricción que significa coordinarse al grupo COO por el ángulo que ello implica, como por el pequeño tamaño del ion berilio(II), de tal ma-

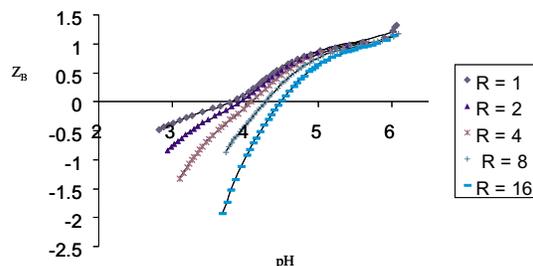


Figura 2. Gráfico de  $Z_B(pH)_R$  del sistema  $H^+$  -  $Be^{2+}$  - Gly.

nera que ello significaría la formación de un anillo quelato de 4 miembros.

Si tomamos en cuenta los resultados del sistema  $H^+$ -Be(II)-acetato (32) y los resultados de Piispanen y Lajunen (31), al compararlos con los valores de las constantes de formación del complejo  $BeHL^{2+}$  obtenidos en el presente trabajo (Tabla 4), aquellos están comprendidos en el intervalo 1,18 - 1,51 y los valores de la constante de formación del complejo  $Be_3(OH)_3HL^{3+}$  abarcan el rango - 6,89 a - 7,42, que se encuentran en el mismo orden de magnitud que los valores reportados para los complejos  $BeL^+$  y  $Be_3(OH)_3L^{2+}$  con los ligandos monohidroxycarboxilatos anteriormente descritos, lo que nos indica que se debería esperar un similar modo de coordinación. Además, tomando en cuenta la naturaleza *switteriónica* de los aminoácidos en la región de  $pH$  estudiado, nos hace suponer que los mismos actúan como ligandos monodentados, enlazándose a través del oxígeno carboxílico, cuando se coordinan, tanto al  $Be^{2+}$  como al complejo  $Be_3(OH)_3^{3+}$ . Sólo probablemente en el complejo  $Be(OH)_2L^-$  el aminoácido actúa como ligando bidentado, coordinándose, tanto por el átomo de nitrógeno, como por el grupo carboxílico, formando un anillo de 5 miembros con los aminoácidos Gly, -Ala, Leu, Ile, Phe, Met, Ser y Thr y de 6 miembros con la  $\beta$ -Ala.

### Resultados de las medidas de RMN

A continuación, se muestran los resultados de las medidas de RMN obtenidas para los sistemas  $H^+$ -Be(II)-Gly,

Tabla 4  
Constantes de formación  $\text{Log } \beta_{\text{pqr}}$  de los sistemas  $\text{H}^+$ - $\text{Be}^{2+}$ -aminoácidos

aminoácido	$\text{BeHL}^{2+}$	$\text{Be}_3(\text{OH})_3\text{HL}^{3+}$	$\text{Be}(\text{OH})_2\text{L}^-$	$(Z_B)$
Gly	1,36(1)	-7,05(3)	-16,38(8)	0,02073
$\beta$ -Ala	1,51(1)	-7,34(4)	-16,45(6)	0,02093
$\alpha$ -Ala	1,21(1)	-7,38(2)	-16,37(4)	0,0118
Leu	1,39(1)	-6,89(1)	-15,90(4)	0,00848
Ile	1,46(1)	-6,90(2)	-15,92(4)	0,00977
Phe	1,19(1)	-6,97(2)	-16,1(2)	0,00688
Met	1,20(1)	-7,42(1)	-16,78(8)	0,0654
Ser	1,25(1)	-7,06(1)	-16,31(3)	0,00686
Thr	1,18(1)	-7,23(2)	-16,25(5)	0,01179

$\text{H}^+$ - $\text{Be}(\text{II})$ - $\beta$ -Ala los cuales fueron seleccionados como modelos. Se trata de apreciar los efectos que se producen en los distintos sistemas, cuando tenemos los aminoácidos solos a un determinado valor de  $pD$  (= " $pH$  leído" + 0,4) (33) y cuando tenemos una mezcla del aminoácido y  $\text{Be}(\text{II})$ .

A continuación presentamos los resultados del sistema  $\text{H}^+$ - $\text{Be}(\text{II})$ -Gly. En las Figuras 4a y 4b se dan los espectros de  $^9\text{Be}$  RMN para la relación  $R$  de 1 y  $B$  100 mM y un valores de  $pD$  = (a) 4,37 y (b) 5,71 respectivamente.

Y en las Figuras 5 y 6 se muestran los espectros de  $^1\text{H}$  RMN para la misma relación  $R$ , en la cual el *espectro 1* representa la Gly sola y el *espectro 2* la mezcla  $\text{Be}(\text{II})$ -Gly a distintos valores de  $pD$ .

En las Figuras 7 y 8 se muestran los espectros de  $^1\text{H}$  RMN del sistema  $\text{H}^+$ - $\text{Be}(\text{II})$ - $\beta$ -Ala para una relación  $R = 1$  y  $B$  100 mM a distintos valores de  $pD$ , al igual que en el caso anterior el *espectro 1* representa la  $\beta$ -Ala sola y el *espectro 2* la mezcla  $\text{Be}(\text{II})$ - $\beta$ -Ala.

En cuanto a los resultados obtenidos de las medidas de RMN, en las Figuras 4a y 4b se muestran los espectros de  $^9\text{Be}$  RMN del sistema  $\text{H}^+$ - $\text{Be}(\text{II})$ -Gly. En la Figura 4a se aprecian dos bandas, una estrecha centra-

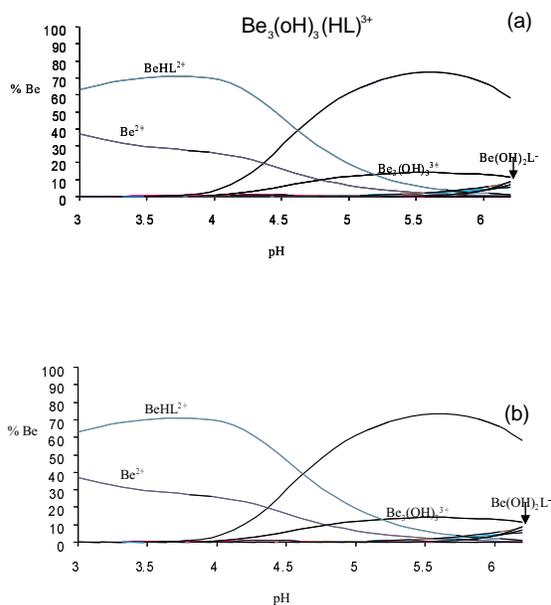


Figura 3. Diagramas de distribución de especies en función del pH del sistema  $\text{H}^+$ - $\text{Be}^{2+}$ -Gly para a)  $R = 16$  y  $B = 8$  mM y b)  $R = 2$  y  $B = 8$  mM.

da a 0 ppm que se debe al ion  $\text{Be}^{2+}$  y otra centrada a 0,7 ppm, que se debe a la especie  $\text{Be}_3(\text{OH})_3$ , la cual es la misma banda que

Tabla 5

Constantes de formación  $\text{Log } \beta_{\text{pqr}}$  de los complejos de Be(II) con glicolato, láctato y 2-hidroxiisobutirato ( $\text{NaClO}_4$  0,5 M,  $25^\circ\text{C}$ ) (31)

Ligando	$\text{BeL}^+$	$\text{BeL}_2$	$\text{Be}_3(\text{OH})_3\text{L}_{2+}$
glicolato	1,05(2)	2,85(1)	-7,56(4)
láctato	1,3(2)		-7,30(9)
2-hidroxiisobutirato	1,15(4)	3,04(3)	-7,2(1)

Tabla 6

Constantes de formación de los complejos de Be(II) con ligandos monocarboxilatos

Ligando	$\text{Log } \beta_1$	$\text{Log } \beta_2$	Referencia
Formato	0,15		40
Acetato	1,62	2,36	32
Propionato	0,30	4,2	41
Nitroacetato	0,26		42

aparece a valores de  $pD$  más básicos Figura 4b. Estas señales ya fueron asignadas anteriormente por Mederos *et al.* (18) para estas especies en el estudio de la hidrólisis del berilio. Lamentablemente, con la glicina no se lograron apreciar señales adicionales en el espectro de  $^9\text{Be}$  RMN, como aparecen con el oxalato, malonato (34) y succinato (35). Esto es atribuido al alargamiento de las señales debido a rápidos procesos de intercambio (36). Lo mismo se pudo apreciar en todos los espectros de  $^9\text{Be}$  RMN realizados con todos los sistemas estudiados. Por ello, tuvimos que basar nuestras observaciones en los efectos que se producen en los espectros de  $^1\text{H}$  RMN, realizando comparaciones cuando teníamos el aminoácido libre y cuando teníamos la mezcla Be(II)-aminoácido. Aunque este tipo de observaciones fueron reportadas por Maeda *et al.* (37) cuando estudiaron el sistema  $\text{Ca}^{2+}$ -Gly, se realizaron espectros de  $^{15}\text{N}$  y  $^{17}\text{O}$  RMN y observaron únicamente un ensanchamiento de las señales, cuando se tenía la mezcla y al compararla

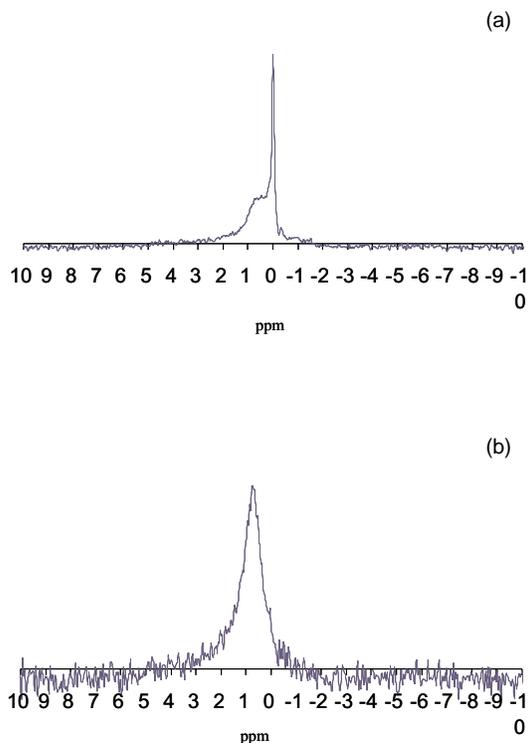


Figura 4. Espectros de  $^9\text{Be}$  RMN del sistema  $\text{H}^+$ -Be(II)-Gly para  $R=1$  y  $B$  100 mM a)  $pD=4,37$  y b)  $pD=5,71$ .

con los espectros del aminoácido solo, esto sugirió que la Gly ante el ion  $\text{Ca}^{2+}$  está actuando como ligando bidentado, coordinándose, tanto por el grupo carboxílico, como por el grupo amino, formando un anillo quelato de 5 miembros.

Tratamos de observar efectos similares en los espectros de  $^1\text{H}$  RMN del sistema  $\text{H}^+$ -Be(II)-Gly, Figuras 5 y 6. El *espectro 1* corresponde a la Gly sola y el *espectro 2* a la mezcla Be(II)-Gly. Se observa un singlete, que es debido por supuesto al grupo metileno de la glicina. Los espectros fueron realizados en dos zonas de  $pD$  en los cuales deben predominar los complejos  $\text{BeHL}^{2+}$  y  $\text{Be}_3(\text{OH})_3\text{HL}^{3+}$ . Se nota que se ensanchan las señales de la mezcla Be(II)-Gly en ambos casos, lo que nos indi-

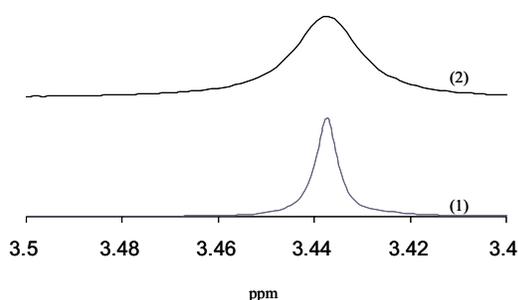


Figura 5. Espectros de  $^1\text{H}$  RMN del sistema  $\text{H}^+$ -Be(II)-Gly. (1) Gly 100 mM a  $pD = 4,35$  y (2) para  $R = 1$ , B 100 mM y  $pD = 4,37$ .

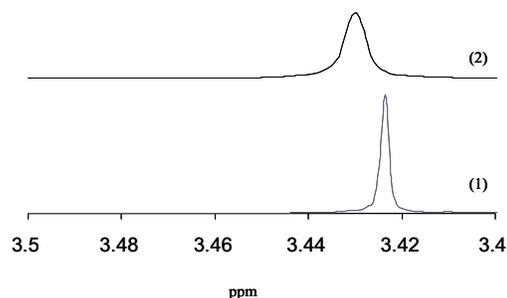


Figura 6. Espectros de  $^1\text{H}$  RMN del sistema  $\text{H}^+$ -Be(II)-Gly. (1) Gly 100 mM a  $pD = 7,4$ ; (2) para una relación  $R = 1$ , B 100 mM y  $pD = 5,71$ .

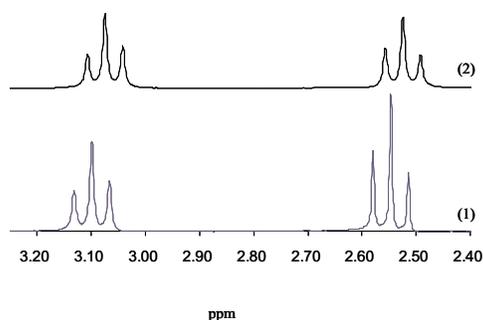


Figura 7. Espectros de  $^1\text{H}$  RMN del sistema  $\text{H}^+$ -Be(II)- $\beta$ -Ala. (1)  $\beta$ -Ala 100 mM a  $pD = 4,16$  (2) para una relación  $R = 1$ , B 100 mM y  $pD = 4,16$ .

ca que el Be(II) está interaccionando de alguna manera con la glicina.

En la Figura 6 en el *espectro 1* se aprecia que el singlete debido al grupo  $\text{CH}_2$  de la glicina, está ligeramente desplazado. Esto es debido a que con la glicina no fue posible preparar la solución al mismo valor de  $pD$  que el de la mezcla.

En cuanto al modo de coordinación de la glicina, Krishnan y Plane (38) propusieron, mediante medidas de Raman, que la glicina actúa como ligando monodentado, coordinándose a través del grupo carboxílico en el complejo  $\text{BeHL}^{2+}$ . Aunque de acuerdo a

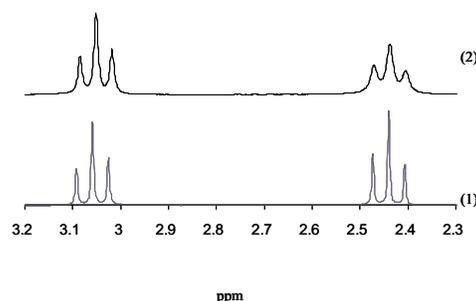


Figura 8. Espectros de  $^1\text{H}$  RMN del sistema  $\text{H}^+$ -Be(II)- $\beta$ -Ala. (1)  $\beta$ -Ala 100 mM a  $pD = 5,52$ ; (2) para una relación  $R = 1$ , B 100 mM y  $pD = 5,53$ .

las medidas de IR de Srivatava, S, (39) supuso que la glicina se coordina a través del grupo amino.

Los resultados de  $^1\text{H}$  RMN del sistema  $\text{H}^+$ -Be(II)- $\beta$ -Ala se presentan en las Figuras 7 y 8. De igual manera, se trató de comparar los efectos que se producen en las señales de los tripletes de los dos grupos metilénicos adyacentes del aminoácido solo y de la mezcla Be(II)- $\beta$ -Ala. Al igual que en el caso anterior, se realizaron espectros a valores de  $pD$ , donde deben predominar los complejos  $\text{BeHL}^{2+}$  y  $\text{Be}_3(\text{OH})_3\text{HL}^{3+}$ . Dado a que el complejo  $\text{Be}(\text{OH})_2\text{L}^-$  se forma en muy poca cantidad, no pudimos realizar medidas en una

zona donde éste predomine en solución ya que precipita el  $\text{Be}(\text{OH})_2$ . Como se dijo, ya se aprecian dos tripletes debido a los grupos metilénicos de la  $\beta$ -Ala, uno centrado a 2,5 ppm aproximadamente, debido al grupo  $\text{CH}_2$  adyacente al grupo carboxílico y el otro, centrado en 3,1 ppm aproximadamente, debido al grupo  $\text{CH}_2$  adyacente al grupo amino. Se puede observar un alargamiento de la señal del grupo  $\text{CH}_2$  adyacente al grupo carboxílico (Figuras 7 y 8), aunque el efecto es mucho más pronunciado en soluciones más concentradas.

Con estos resultados del sistema  $\text{H}^+$ -Be(II)- $\beta$ -Ala, nos permiten pensar que en los complejos  $\text{BeHL}^{2+}$  y  $\text{Be}_3(\text{OH})_3\text{HL}^{3+}$ , el aminoácido actúa como ligando monodentado, coordinándose a través del grupo carboxílico, lo que está de acuerdo con el análisis  $Z_b(\text{pH})$ .

#### 4. Conclusiones

Se lograron determinar las constantes de formación de los complejos de  $\text{Be}^{2+}$  con los aminoácidos Gly,  $\alpha$ -Ala,  $\beta$ -Ala, Phe, Met, Leu, Ile, Ser y Thr, obteniéndose el siguiente modelo que incluyen las especies:  $\text{BeHL}^{2+}$ ,  $\text{Be}_3(\text{OH})_3\text{HL}^{3+}$  y  $\text{Be}(\text{OH})_2\text{L}^-$ .

Comparando los resultados obtenidos con el modelo propuesto por Bertin *et al.* (14) con los aminoácidos Gly y  $\beta$ -Ala, se puede apreciar la importancia de la selección de un modelo correcto de la hidrólisis del Be(II), en el análisis de los datos de medidas de  $\text{emf}(H)$  y como la selección del mismo afecta el modelo global de la formación de complejos de Be(II) con aminoácidos, ya que con estos sistemas se forman complejos de muy baja estabilidad.

Considerando los resultados de estudios por medio de medidas de  $\text{emf}(H)$  de los complejos de Be(II) con ligandos monohidroxicarboxilatos reportados por Piispanen *et al.* (31) y tomando en cuenta la naturaleza *switteriónica* de los aminoácidos estudiados en la región de  $\text{pH}$  de interés, se puede decir

que en los complejos  $\text{BeHL}^+$  y  $\text{Be}_3(\text{OH})_3\text{HL}^{3+}$  los aminoácidos estudiados actúan como ligandos monodentados, coordinándose a través del grupo carboxílico y en el complejo  $\text{Be}(\text{OH})_2\text{L}^-$  probablemente el aminoácido actúa como ligando bidentado, coordinándose tanto al grupo carboxílico como al átomo de nitrógeno del mismo, formando un anillo quelato de 5 miembros con la Gly,  $\alpha$ -Ala, Phe, Met, Leu, Ile, Ser y Thr, y un anillo quelato de 6 miembros con la  $\beta$ -Ala. Es de destacar que este complejo se logra detectar sólo a altas relaciones aminoácido/ $\text{Be}^{2+}$ , el cual se forma en una pequeña cantidad a valores de  $\text{pH} > 5,8$  en una zona cercana a la precipitación del  $\text{Be}(\text{OH})_2$ .

Con respecto a las medidas de  $^1\text{H}$  RMN estas fueron empleadas para obtener información acerca de las posibles estructuras de los complejos que se forman en solución. Los resultados del sistema  $\text{H}^+$ -Be(II)- $\beta$ -Ala nos sugieren que los aminoácidos similares a la glicina actúan como ligandos monodentados, en la formación de los complejos  $\text{BeHL}^{2+}$  y  $\text{Be}_3(\text{OH})_3\text{HL}^{3+}$ , coordinándose a través del grupo carboxílico. Lamentablemente por debido a que la especie  $\text{Be}(\text{OH})_2\text{L}^-$  se forma en muy pequeña cantidad en una región cercana de la precipitación de  $\text{Be}(\text{OH})_2$  esta no pudo ser detectada por medidas de RMN de  $^1\text{H}$ .

#### Agradecimientos

Agradecemos al CDCH por la subvención recibida (Proyecto B03.12.4562.1999). Vito Lubes quiere expresar sus agradecimientos al CDCH, al Postgrado en Química, a DICORI y a la Red ALFA *Metales y Problemas Medio Ambientales* (Proyecto ALRIB73011/94.04-5.02739) 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 Bibliográficas

1. MC FARLAN D. *The Guinness book of Records* Guinness Publishing, Londres, 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** Springer, 8<sup>a</sup> Ed, Berlin (Alemania), 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 22-24, 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** 47: 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., KISSAND T., GERGELY A. **Pure Appl Chem** 65: 1029-1080, 1993.
14. BERTIN F., THOMAS-DAVID G., DUC G. **Bull Soc Chim France** 793-796, 1974.
15. MEDEROS A., MEDINA E., ALVAREZ COLOMER J., BRITO F. **Polyhedron** 8(16): 2017-2022, 1989.
16. MEDEROS A., DOMÍNGUEZ S., CHINEA E., BRITO F., MIDOLLINI S., VACCA A. **Bol Soc Chil Quím** 42: 281-295, 1997.
17. BRUNO J. **J Chem Soc Dalton Trans** 2431-2437, 1987.
18. CHINEA E., DOMÍNGUEZ S., MEDEROS A., BRITO F., SÁNCHEZ A., IENCO A., VACCA A. **Main Group Metal Chemistry** 20(1): 11-17, 1997.
19. THOMAS M., ALDRIDGE 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<sup>o</sup> 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. BERTHON G. **Pure & Appl Chem** 67: 1117-1240, 1995.
28. SZABÓ-PLÁNKA T., ROCKENBAUER A., KORECZ L. **Polyhedron** 18: 1969-1974, 1999.
29. SOLOMONS G. **Organic Chemistry** John Wiley, New York (USA), 1985.
30. KAKIHANA H., SILLÉN L.G. **Acta Chem Scand** 10: 985-998, 1956.
31. PIISPANEN J., LAJUNEN H. **Acta Chem Scand** 50: 1074-1080, 1996.
32. BAMBERGER C.E., SUNERA. **J Inorg Nucl Chem Letters** 9: 1005-1012, 1973.
33. GLASOE P.K., LONG F. **J Phys Chem** 64: 632-639, 1960.
34. BARBARO P., CECCONI F., GHILARDI C., MIDOLLIONI S., ORLANDINI A., ALDERIGHI L., PETERS D., VACCA A., CHINEA E., MEDEROS A. **Inorg Chim Acta** 262: 187-194, 1997.

35. ALDERIGHI L., BIANCHI A., MEDEROS A., MIDOLLINI S., RODRÍGUEZ A., VACCA A. ***Eur J Inorg Chem*** 1209-1215, 1998.
36. AKITT J. W. ***NMR and Chemistry*** Chapman & Hall, 3<sup>era</sup> Edición, Gran Bretaña, Cap 6, 1992.
37. MAEDA M., OKADA K., TSUKAMOTO Y., WAKABAYASHI K., KANAME ITO. ***J Chem Soc Dalton Trans*** 2337-2339, 1990.
38. KRISHNAN K., PLANE R. A. ***Inorg Chem*** 6: 55-60, 1967.
39. SRIVASTAVA S. ***J Proc Inst Chem India*** 39: 173-179, 1967.
40. GRENEWALD B., KNOCKE W., REES N.H. ***J Chem Soc Dalton Trans*** 2338-2349, 1976.
41. TEDESCO P. H., DE RUMI V.B. ***J Inorg Nucl Chem*** 37: 1833-1841, 1975.
42. PEDERSEN K. ***Acta Chem Scand*** 3: 676-683, 1949.