

DEPARTAMENTO DE BROMATOLOGIA, TOXICOLOGIA Y ANALISIS
QUIMICO APLICADO

FACULTAD DE FARMACIA. UNIVERSIDAD DE GRANADA

R. GARCÍA-VILLANOVA

ESTUDIO ESPECTROFOTOMETRICO DE LOS COMPLEJOS DE 2-MERCAPTOPROPIONIL GLICINA CON Ni(II) y Co(II)

M.^a J. QUESADA, L. SÁNCHEZ y R. J. GARCÍA-VILLANOVA

RESUMEN

La 2-mercaptopropionil glicina (MPG) produce con Ni(II) y Co(II), en disolución acuosa, sendos complejos de colores verde y marrón, respectivamente.

Se han realizado sendos estudios del pH óptimo y tiempo de formación, estequiometría, estabilidad a la oxidación por aire y yodo, y se ha comprobado el rango de concentración en que se cumple la ley de Lambert-Beer se produce el mínimo error fotométrico.

SUMMARY

2-mercaptopropionylglycine gives two complexes with Ni(II) and Co(II), green and maroon respectively, in aqueous solution. For each of them a study on the optimum pH and time formation, stoichiometry and stability against air and iodine oxidation has been performed. Concentration range in which the Lambert-Beer's ed, are also reported.

INTRODUCCION

El conocimiento de la acción radioprotectora de sustancias como el AET y derivados ocupa la década de 1960 a 1970.

Recientemente SUGHARA y col. (1) han estudiado nuevos compuestos sulfurados derivados de la 2-mercaptopropionil glicina (MPG), que actúan como potentes radioprotectores con una toxicidad mínima en el ratón.

Los mecanismos de protección *in vitro*, han sido ensayados por KUZNETSOV y KUSHAKOUSKISI (2), GRAEVSKII (3) entre otros.

El estudio de la formación de complejos metálicos con los radioprotectores y sus efectos bioquímicos se debe a FOYE y col. (4). Igualmente FOYE y SOLÍS, en colaboración con SCHEMER, HORN y PRIEU (5) comprueban el efecto de los agentes complejantes en la biosíntesis de mucopolisacáridos.

Recientemente FUNAE y col. (6) han estudiado por potenciometría las constantes de estabilidad de los complejos de Zn, Cd, Pb(II) y Fe(II). También han aislado y descrito por espectroscopia IR los complejos de Hg(II).

Finalmente, se han estudiado en nuestro departamento los complejos de bromuro bromhidrato de 2-aminoetilisotiourea (AET) con Co(II) por LORENZO y GARCÍA-VILLANOVA (7), (8), Cu(I) por GARCÍA-VILLANOVA y NOGUERA (9) y Ni(II) por GARCÍA-VILLANOVA y GALLEGO (10), (11).

MATERIAL Y REACTIVOS

Espectrofotómetro UV Hitachi Perkin-Elmer, mod. 124 y registro gráfico, mod. 165.

Potenciómetro Radiometer, mod. 26.

2-mercaptopropionil glicina (MPG), Sigma (R. A.).

Sulfato de Níquel, Merck (R. A.).

Nitrato de Cobalto, Merck (R. A.).

AEDT, Merck (R. A.).

Acido clorhídrico, Probus (R. A.).

Hidróxido sódico, Probus (R. A.).

Amoníaco, Probus (R. A.).

Cloruro amónico, Probus (R. A.).

PARTE EXPERIMENTAL Y DISCUSION

I. ESTUDIO DEL COMPLEJO 2-MERCAPTOPROPIONIL GLICINA (MPG) Ni(II)

Al valor de pH de la disolución de MPG ($\text{pH} = 3$) en agua, no se observa reacción. Solamente cuando se eleva el pH, se produce la neutralización del protón del grupo carboxílico, dando lugar a la formación del complejo MPG-Ni(II).

La estabilidad del mismo desciende paulatinamente cuando baja el pH hasta 1 y como consecuencia, el color verde del complejo se atenúa (efecto hipocrómico).

Todas las medidas de absorbancia se realizan frente a un blanco de agua destilada.

Espectro de absorción en el visible

A la concentración de Ni(II) y MPG $3,0 \cdot 10^{-3}$ y $9,0 \cdot 10^{-3}$ M, respectivamente, el espectro de absorción presenta un máximo a 480 nm a todos los valores de pH ensayados. La banda de absorción no modifica su longitud de onda a otras concentraciones de catión y ligando.

Influencia del pH

A la concentración del complejo antes indicada se han medido las absorbancias entre los valores de pH 5 a 12 a 480 nm.

Se puede observar en la gráfica de la figura 1 la enorme variación de la absorbancia que se produce para pequeñas fluctuaciones a valores de pH menores de 8, por lo cual se adoptó como pH óptimo el de 9.

Característica espectrofotométricas

La Ley de Lambert-Beer se cumple para concentraciones de Ni(II) comprendidas entre $0,25 \cdot 10^{-3}$ y $4,0 \cdot 10^{-3}$ M en disolución $5,0 \cdot 10^{-3}$ M en MPG al pH de 9,0.

Con los valores de absorbancia de la experiencia anterior se ha verificado la representación de Ringbom comprobándose que el error fotométrico es mínimo en ese margen de concentración. Con valores de la absorbancia obtenidos a diferentes concentraciones

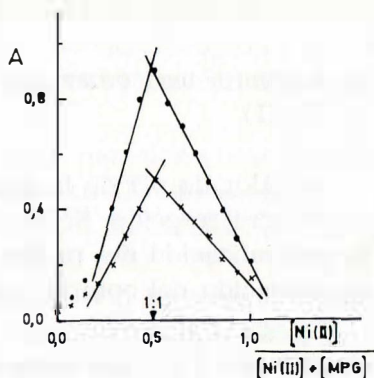
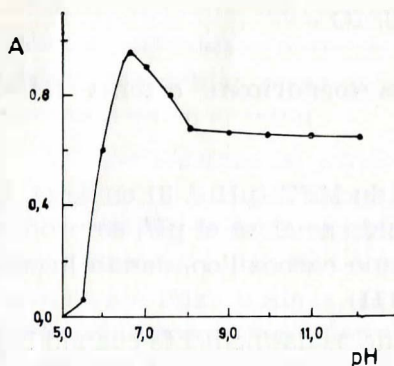


Fig. 1.—Variación de la absorbancia del complejo MPG-Ni(II) con el pH. Se adoptó como pH óptimo el de valor 9.

Fig. 2.—Determinación de la estequiometría del complejo MPG-Ni(II) por el método de Job a las concentraciones de $1,25 \cdot 10^{-3} M$ y $7,50 \cdot 10^{-3} M$, expresados en la figura con aspas y puntos, respectivamente.

que sirvieron para conocer el cumplimiento de la Ley de Lambert-Beer, se ha calculado la absortividad molar, por el método de los mínimos cuadrados y ha resultado ser $E_{480} = 200 \text{ l. mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Estequiometría en disolución

Se ha seguido el método de Job con la modificación de VOSBURGH y COOPER (12) operando con disolución de Ni(II) y MPG $1,25 \cdot 10^{-3} M$ en una primera experiencia y $7,5 \cdot 10^{-3} M$ en otra segunda, ambas a pH 9. En la figura 2 se han representado los valores obtenidos.

De igual modo se ha aplicado el método de Yoe-Jones (13) para confirmar la estequiometría a través de dos experiencias:

- A una concentración fija $1,5 \cdot 10^{-3} M$ de MPG se pusieron cantidades entre $0,5 \cdot 10^{-3}$ y $2,5 \cdot 10^{-3} M$ de Ni(II).
- Fijando ahora la concentración de Ni(II) en $1,5 \cdot 10^{-3} M$, se pusieron concentraciones de MPG comprendidas entre $0,5 \cdot 10^{-3}$ y $2,5 \cdot 10^{-3} M$.

En la figura 3 se han representado los valores de ella y la anterior se deduce una relación 1:1 [MPG:Ni(II)].

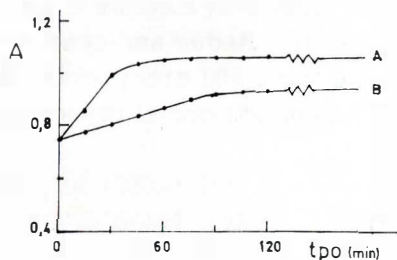
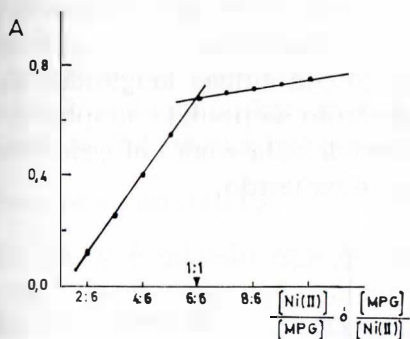


Fig. 3.—Determinación de la estequiometría del complejo MPG-Ni(II), por el método de Yoe-Jones.

Fig. 4.—Estabilidad del complejo MPG-Ni(II) y del reactivo MPG frente a la oxidación por el aire.

Estabilidad a la oxidación

Comprobado el nulo efecto de la luz sobre la estabilidad del complejo en el tiempo —por comparación con otra muestra mantenida en la oscuridad— se verificó un estudio del comportamiento del complejo y del reactivo MPG frente al oxígeno del aire.

A través de una disolución $1,0 \cdot 10^{-2} M$ en Ni(II) y MPG se pasó aire exento de CO_2 durante los tiempos que se indican en la figura 4, transcurrido cada cual se tomaron sendas porciones, se diluyeron a $1,6 \cdot 10^{-3} M$ —ajustando el pH a 9— y se midieron al espectrofotómetro.

Paralelamente disolución $1,0 \cdot 10^{-2} M$ de MPG, que posteriormente se complejó con Ni(II) y se midió al espectrofotómetro.

De la figura 4 se deduce una mayor estabilidad del MPG, frente a la oxidación por el aire, cuando se encuentra complejado por el Ni(II) que en su ausencia.

II. ESTUDIO DEL COMPLEJO 2-MERCAPTOPROPIONIL GLICINA (MPG)-Co(II)

Espectro de absorción visible

Se obtuvo con una disolución $0,5 \cdot 10^{-4} M$ en Co(II) y $2,5 \cdot 10^{-4} M$ en MPG de pH 9. En la figura 5 se observa que comienza teniendo una

banda de absorción con máximo a 790 nm. A 500 nm aparece un hombro que probablemente, procede del solapamiento de dos bandas. Se verificó el estudio del complejo con ambas longitudes de onda, con resultados análogos; no obstante se prefirió adoptar finalmente la de 500 nm, por ser más fiable esta zona del espectro electromagnético con el espectrofotómetro usado.

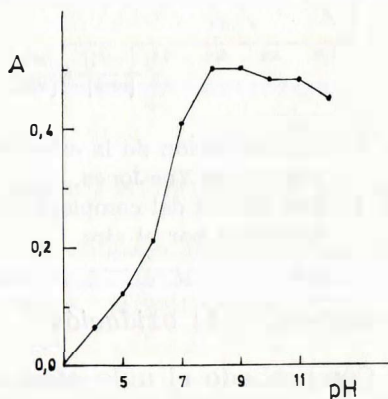
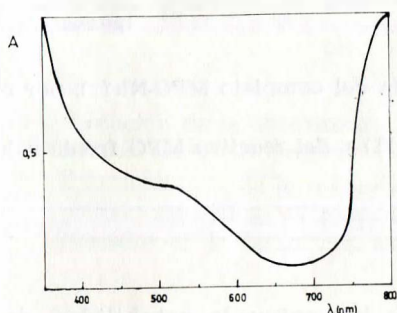


Fig. 5.—Espectro de absorción visible del complejo MPG-Co(II).

Fig. 6.—Variación de la absorbancia del complejo MPG-Co(II) con el pH.
Se adoptó como pH óptimo el de valor 9.

El complejo posee color marrón-rojizo.

Todas las medidas de absorbancia se realizaron frente a un blanco de agua destilada.

Influencia del pH

Con disoluciones de igual concentración que la anterior se midieron los valores de absorbancia a los valores de pH que se indican en la figura 6, después de 15 minutos. Se adoptó como pH óptimo el de valor 9.

Por comparación con otras disoluciones cuyos valores de pH se ajustaron con NaOH se dedujo la nula influencia del complejo que podría formar el Co(II) con amoníaco, por lo que en lo sucesivo se obtiene el valor de pH 9 mediante la adición de una cantidad conveniente de disolución reguladora de $\text{NH}_4\text{Cl-NH}_4\text{OH}$ para obtener una concentración 0,1M.

pitación del Co(II). En la figura 8 se han representado los valores obtenidos.

El método de Yoe-Jones' (13) confirma de un modo más satisfactorio la estequiometría obtenida por el método de Job. De la figura 9 se deduce una relación 2:1 [MPG:Co(II)].

Constante de estabilidad

Se ha determinado espectrofotométricamente con dos series, una de 7 disoluciones del complejo que contenían concentraciones desde 2.0 a $8,0 \cdot 10^{-4}M$ en Co(II) y desde 4,0 a $16,0 \cdot 10^{-4}M$ en MPG, respectivamente y otra serie con iguales concentraciones en Co(II) que la anterior y $3,2 \cdot 10^{-3}M$ en MPG. De los valores de absorbancia obtenidos se dedujo, mediante la siguiente fórmula, la constante de estabilidad.

$$K_{est.} = \frac{1 - \alpha}{C.n.\alpha^2}$$

en la que α es el grado de disociación deducido de las diferencias de absorbancias para iguales concentraciones de Co(II) y n es la relación MPG:Co(II) en la fórmula del complejo. Resultó un valor de $1,28 \cdot 10^5$.

Estabilidad a la oxidación

Comprobado —del mismo modo que se hizo en el complejo de Ni— el nulo efecto de la luz sobre la estabilidad del complejo en el tiempo, se verificó un estudio del comportamiento frente al oxígeno del aire y al tratamiento con yodo.

a) Oxidación con aire:

A través de una disolución $8,3 \cdot 10^{-3}M$ en MPG y $4,2 \cdot 10^{-3}M$ en Co(II) a pH 9, se pasó aire exento de CO_2 durante los tiempos que se indican en la tabla I, transcurrido cada cual se tomaron sendas porciones, se diluyeron a $2,0 \cdot 10^{-3}M$ en MPG y $1,0 \cdot 10^{-3}M$ en Co(II) ajustando el pH a 9— y se midieron al espectrofotómetro a los quince minutos. Estas mismas operaciones se realizaron sobre una disolución de igual concentración de MPG, pero a la que se añadió el Co(II) después de cada tiempo de pasar aire.

De la tabla I se deduce la nula oxidación de MPG, tanto cuando está sola, como cuando complejando al Co(II). El aumento de

Tiempo de formación

A una disolución de la misma concentración que las anteriores se midió la absorbancia en los tiempos que se indican en la figura 7. Se adoptó como tiempo óptimo de formación el de quince minutos.

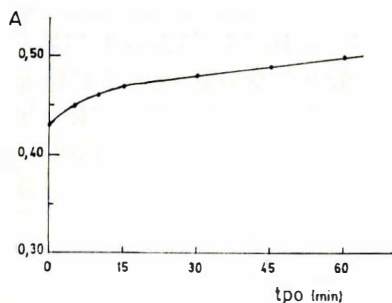
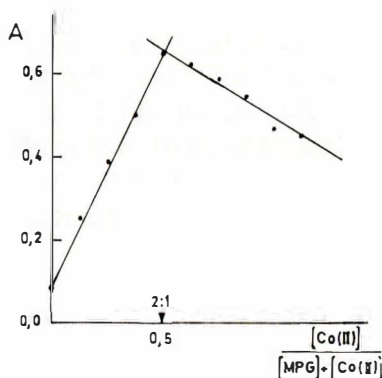


Fig. 7.—Tiempo de formación del complejo MPG-Co(II). Se adoptó como óptimo el de 15 minutos.

Fig. 8.—Determinación de la estequiometría del complejo MPG-Co(II) por el método de Job.



Características espectrofotométricas

La Ley de Lambert-Beer se cumple para concentraciones de Co(II) comprendidas entre $2,0 \cdot 10^{-4}$ y $2,0 \cdot 10^{-3} M$ en dilución $5,0 \cdot 10^{-2} M$ en MPG.

La absorptividad molar ha sido determinada con los valores de absorbancia que sirvieron para conocer el cumplimiento de la Ley de Lambert-Beer, aplicando el método de los mínimos cuadrados, y el valor obtenido es $E_{500} = 995 \text{ l. mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

El error fotométrico es mínimo, de acuerdo con la representación de Ringbom, en el intervalo de concentración de Co(II) en que se cumple la Ley de Lambert-Beer.

Estequiometría en disolución

Se utilizó el método de Job modificado (12), operando con disoluciones de Co(II) y MPG $7,0 \cdot 10^{-3} M$, a pH 8 para evitar la preci-

la absorbancia en la columna A se debe a un pequeño incremento de la concentración de complejo en el tiempo, como ya se vio en el estudio del tiempo óptimo de formación.

TABLA I

Variación de la absorbancia del complejo con el tiempo de aireación. A: Sobre el complejo formado desde el principio. B: Sobre el MPG solo, que posteriormente se hace reaccionar con Co(II) y se mide a los 15 minutos en cada caso

Tiempo (minutos)	Absorbancia	
	A	B
0	0,40	0,40
30	0,43	0,40
60	0,46	0,40
120	0,48	0,40
180	0,51	0,40
240	0,52	0,39

b) Oxidación con yodo:

En un vaso se pusieron 20,0 ml de MPG $5,0 \cdot 10^{-3}M$ y 10,0 ml de Co(II) de igual concentración, se ajustó el pH a 9 con NaOH y se añadieron 10 ml de una disolución $1,0 \cdot 10^{-1}M$ de yodo en yoduro potásico. Se midieron los valores de absorbancia en los tiempos que se indican en la tabla II, habiendo previamente destruido el exceso de yodo con tiosulfato sódico 0,1 M en presencia de almidón y enrasado a 50 ml con agua.

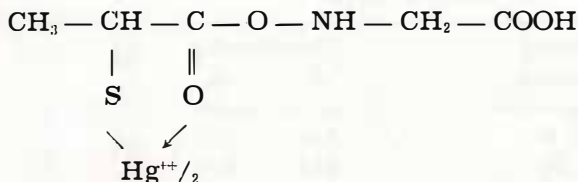
Simultáneamente se midió en cada tiempo otra disolución de iguales concentraciones en MPG y Co(II) al pH de 9.

TABLA II

Valores de absorbancia de disoluciones del complejo en presencia y en ausencia de un exceso de yodo. La última columna representa las cantidades de tiosulfato añadidas para destruir el yodo sobrante

Tiempo (horas)	Absorbancia		ml $Na_2S_2O_3$ 0,1N
	Sin I_2	Con I_2	
1	0,92	0,27	7,5
2	1,00	0,18	6,8
3	0,99	0,16	6,8
4	0,98	0,17	6,7
24	0,88	0,07	6,6
48	0,86	0,06	6,5

Algo ya previsible era la oxidación de MPG por el yodo cuando aquél estuviera solo, pero no lo era tanto si se encontrara complejando al Co(II). De la presente experiencia se deduce, sin embargo, que efectivamente se produce esta oxidación, lo que no sorprende gran cosa, debido al valor mediano de la constante de estabilidad del complejo. FUNAE y col. (6) propusieron la siguiente fórmula para el complejo de Hg(II).



y parece lógico que el complejo de Co(II) estudiado por nosotros, posea los mismos puntos de enlace. De ser así, queda perfectamente explicada la destrucción del complejo por oxidación del grupo tiol que pasa a formar un enlace disulfuro con otra molécula de MPG y así desaparece la unión electrovalente.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—SUGAHARA, T.; HORIKAWA, M.; HIKITA, M., y NAGATA, H.: Radioprotection. Birkhanser Verlag, Vasel un Stuttgart, pág. 53 (1977).
- 2.—KUZNETSOV, V. I. and KUSHAKOVSKII, M. S.: Med. Radiol. 8, 27 (1963).
- 3.—GRAEVSKII, E. Ya.: Izv. Akad. Nauk. SSSR, Ser. Viol., 31, 376 (1966).
- 4.—FOYE, W. O.; MICKLES, J. and DUVAL, R. N.: Massachuset College of Pharmacy, U.S.A. (1967).
- 5.—FOYE, W. O.; SOLÍS, M.C.M.; SEHERMERHORN, J. W. and PRIEM Edw.: J. Pharm. Sci., 54, 1365 (1965).
- 6.—FUNAE, Y.; TOSHIOKA, N.; MITA, I.; SUGIHARA, T. y otros: Chem. Pharm. Bull., 19 (8), 1618 (1971).
- 7.—LORENZO, M.^a L., y GARCÍA-VILLANOVA, R.: Ciencia & Ind. Farm., 10, 171 (1978).
- 8.—LORENZO, M.^a L., y GARCÍA-VILLANOVA, R.: Ciencia & Ind. Farm., 10, 253 (1978).
- 9.—GARCÍA-VILLANOVA, R., y NOGUERA, G.: Ciencia & Ind. Farm., 6, 317 (1974).
- 10.—GARCÍA-VILLANOVA, R., y GALLEGRO, C.: Anal. Química, 69, 477 (1973).
- 11.—GARCÍA-VILLANOVA, R., y GALLEGRO, C.: Ciencia & Ind. Farm., 5, 131 (1973).
- 12.—VOSBURG, M., y COOPER, J.: J. Am. Chem. Soc., 63, 437 (1941).
- 13.—JOE, J. M., y JONES, A. L.: Ind. Chem. Anal., Ed., 16, 111 (1944).