

NOTA

ESTUDIO ELECTROANALITICO PREVIO DE LA HISTAMINA EN PRESENCIA DE IONES METALICOS Y COMPUESTOS CARBONILICOS

POR

M.C. GAGO AGRAFOJO, J.L. HIDALGO HIDALGO DE CISNEROS
y J.A. MUÑOZ LEYVA*Departamento de Química Analítica Facultad de Ciencias
Universidad de Cádiz*Recibido el 17 de mayo de 1989**En versión definitiva el 25 de septiembre de 1989*

RESUMEN.—En este trabajo se estudia el comportamiento electroanalítico de la histamina frente a un numeroso grupo de iones metálicos y compuestos carbonílicos. La histamina forma complejos no electroactivos con muchos iones salvo en el caso de V(V) y Cr(VI) cuyas ondas sufren modificaciones de interés para su posible determinación cuantitativa. Respecto a los compuestos carbonílicos, hemos observado que muchos aldehídos forman bases de Schiff electroreducibles destacando las nuevas ondas que aparecen con acetaldehído, iso-ftalaldehído y acroleína.

SUMMARY.—In this paper the electroanalytical behaviour of histamine with numerous metallic ions and carbonilic compounds is studied. This amine form non electroactive complexes with several ions, but V(V) and Cr(VI) give new interesting waves. On the other hand, studying the carbonilic compound, we are observed that several aldehydes form electroactive Schiff's bases. The new waves with acetaldehyde, iso-phthalaldehyde and acroleine are of analytical interest.

INTRODUCCION

La histamina es una amina tóxica, formada biogénicamente a partir del aminoácido histidina (1) por lo que se encuentra presente tanto en el reino animal como en el vegetal. Se concentra en diversas partes del organismo humano, de las que puede liberarse bruscamente llegando a producir la muerte si su nivel en el plasma sobrepasa cien veces el normal (2). También parece ser que, a través de la formación de sus complejos, interviene en el mecanismo de la carcinogénesis producida por ciertos metales (3).

Se han propuesto para su determinación numerosos métodos principalmente biológicos, espectrofotométricos, fluorimétricos, radioenzimáticos y de espectrometría de masas, muchos de ellos en combinación con métodos cromatográficos, especialmente HPLC; sin embargo, las determinaciones polarográficas son todavía escasas, mereciendo destacar las basadas en la formación de una imina con acetaldehído —seguida por polarografía clásica (4)— y en la condensación con o-ftalaldehído, separación por HPLC y detección electroquímica por oxidación sobre un electrodo de carbono (5).

Con el presente trabajo se inicia el estudio electroanalítico sistemático de la histamina en presencia de diversos iones metálicos, aldehídos y cetonas, con la finalidad de hallar complejos o compuestos electroactivos que permitan el establecimiento de métodos polarográficos o voltamétricos selectivos y sensibles para la determinación de histamina.

PARTE EXPERIMENTAL**Reactivos**

Todos los productos utilizados (sales metálicas, compuestos orgánicos, etc.) fueron de calidad analítica, y sin posterior purificación. Las disoluciones de trabajo se prepararon por dilución adecuada de disoluciones stock (0,01 M de clorhidrato de histamina; 0,1 M para los compuestos carbonílicos y 0,1 g/l para los iones metálicos). Como electrolitos fondo se emplearon KNO₃ 0,1 M, KSCN 0,1 M ó KCl 0,1 M para los iones, y disolución reguladora universal constituida por los ácidos acético, bórico y fosfórico (cada uno de ellos en concentración 0,04 M) y cantidades variables de NaOH 0,2 M, para las reacciones con los compuestos carbonílicos.

Aparatos

— pH-metro Metrohm 654, provisto de electrodo combinado de vidrio y calomelanos.

— Polarógrafo Metrohm E506 equipado con un stand polarográfico E505, electrodo de referencia Ag/AgCl EA427, electrodo auxiliar de Pt EA285 y E.G.M.

Las técnicas de estudio utilizadas fundamentalmente han sido la polarografía de corriente continua, PCC, y la polarografía diferencial de impulsos, PDP. Además, prácticamente todos los estudios se realizaron en reducción.

Procedimientos

a) Para el estudio con los iones metálicos se prepararon di-

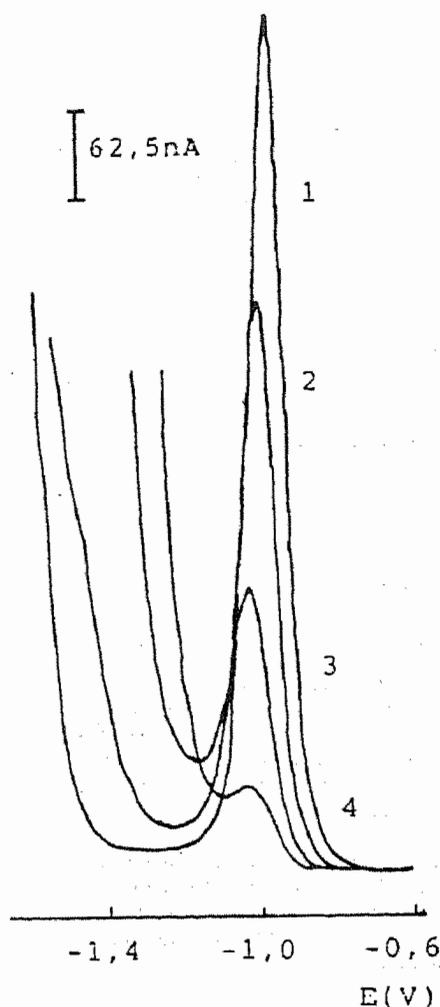


Figura 1

Evolución de la onda del Ni(II) en presencia de histamina. 1) Ni(II) $8,5 \cdot 10^{-5} M$; 2, 3 y 4) en presencia de histamina 10^{-4} , $8 \cdot 10^{-4}$ y $5 \cdot 10^{-3} M$, respectivamente. Condiciones instrumentales: amplitud de impulso $-50 mV$; velocidad de barrido $-8,3 mV/s$; tiempo de gota $0,6 s$; sensibilidad de registro $2,5 nA/mm$.

soluciones conteniendo todas ellas una concentración fija del catión ($5,0 ppm$) y concentraciones variables de histamina comprendidas entre $5 \cdot 10^{-5}$ y $5 \cdot 10^{-3} M$, y en presencia de KNO_3 $0,1 M$, $KSCN$ $1 M$ ó KCl $1 M$. Tras pasar N_2 durante 10 minutos, se registran los polarogramas en PDP y en PCC.

b) Para el estudio de las reacciones de histamina con compuestos carbonílicos se prepararon numerosas muestras conteniendo una concentración fija de histamina igual a $2,0 \cdot 10^{-4} M$, concentraciones variables de los compuestos carbonílicos seleccionados y disolución reguladora universal ajustada a varios valores de pH por adición de $NaOH$ $0,2 M$. Tras pasar N_2 durante 10 minutos, se registran los polarogramas como en el caso anterior. En algunos casos, se vuelven a realizar transcurrida una hora después o tras calentar las disoluciones, con objeto de comprobar su posible efecto en la reacción de condensación.

RESULTADOS Y DISCUSION

Comportamiento frente a los iones metálicos

Se ensayaron los siguientes iones: $Cd(II)$, $Pb(II)$, $Tl(I)$,

$Mn(II)$, $Zn(II)$, $Ni(II)$, $Hg(II)$, $Cu(II)$, $Ag(I)$, $Fe(III)$, $Al(III)$, $Sb(III)$, $Co(II)$, $V(V)$ y $Cr(VI)$. Los resultados obtenidos permiten clasificar los iones en tres grupos: los que no reaccionan con histamina, los que forman complejos no-electroactivos y los que sí forman complejos electroactivos o presentan un comportamiento dudoso. Así, de todos los iones ensayados, no producen resultados positivos, $Cd(II)$, $Pb(II)$, $Tl(I)$ y $Sb(III)$ pues sólo se produce una ligera modificación de su I_p , lo que, en el mejor de los casos, indicaría la posible formación de complejos no-electroactivos, pero muy débiles.

En el caso del $Zn(II)$ y $Ni(II)$, $Co(II)$, $Cu(II)$, $Hg(II)$, $Fe(III)$ y $Al(III)$, los resultados muestran que el incremento de la concentración de histamina provoca una disminución de la intensidad del pico en PDP, referida a la I_p de la onda del catión en ausencia de histamina, manteniéndose invariable el potencial del pico. Esto, que se puede apreciar en la fig. 1, indica la formación de complejos no electroactivos ión metálico/histamina, y produce variaciones en las ondas cuya magnitud nos ha permitido estudiar la estequiometría de los complejos. Así, para el de $Ni(II)$, las concentraciones de ión metálico que aparentemente permanecen sin complejar, calculadas a partir de las variaciones de I_p y de la curva de calibrado del catión, nos han permitido establecer que su estequiometría es 1:1. El método utilizado ha sido una variante del método del logaritmo de la línea recta propuesto por Román Ceba, Muñoz Leyva y Jiménez Sánchez (6) en la que hemos sustituido las medidas de absorción molecular por medidas de variación de I_p . El mismo tratamiento aplicado al complejo de $Zn(II)$ condujo también a una estequiometría 1:1. En ambos casos, los resultados coinciden con los indicados en la bibliografía.

El comportamiento de otro grupo de iones ensayados aparece algo más confuso como ocurre con el $Mn(II)$ y el $Cr(VI)$. Así, este último, en medio KNO_3 $0,1 M$, presenta en PDP dos picos en $-0,31$ y $-1,07 V$ (fig. 2). En presencia de cantidades crecientes de histamina, el primer pico primero aumenta considerablemente de intensidad para luego ir disminuyendo, al mismo tiempo que su posición se va desplazando hacia potenciales menos negativos. Por otra parte, el segundo pico va disminuyendo de intensidad sin alterar prácticamente su posición. La evolución del primer pico parece indicar la formación de un complejo $Cr(III)$ -histamina, lo que facilitaría la reducción del $Cr(VI)$, al mismo tiempo que una reacción $Cr(VI)$ -histamina.

Finalmente, el $V(V)$ tiene un comportamiento singular: en ausencia de histamina y en el medio utilizado, exhibe varias ondas polarográficas que evolucionan al ir incrementando la concentración de histamina, aumentando de intensidad unas, disminuyendo otras, y apareciendo ondas nuevas. Todo ello parece indicar la formación sucesiva de varios complejos de vanadio.

Comportamiento frente a compuestos carbonílicos

Se ha ensayado un grupo de 10 aldehídos y 7 cetonas elegidos de forma que su variedad nos permita establecer conclusiones generales. Los compuestos han sido los siguientes: formaldehído, acetaldehído, heptanal, acroleína, benzaldehído, piridincarbaldéhído, 2-nitrobenzaldehído, salicilaldehído, orto- e iso-ftalaldehído, 2,3-butanodiona, acetilacetona, 1,2-ciclo-hexanona, 2-hidroxi-1,4-naftoquinona, fenil-2-piridilcetona, isatina y dimedona.

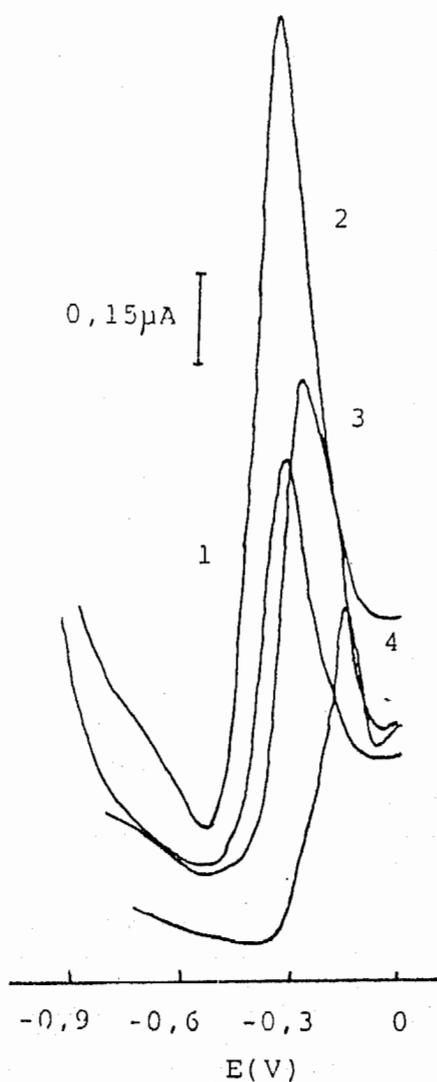


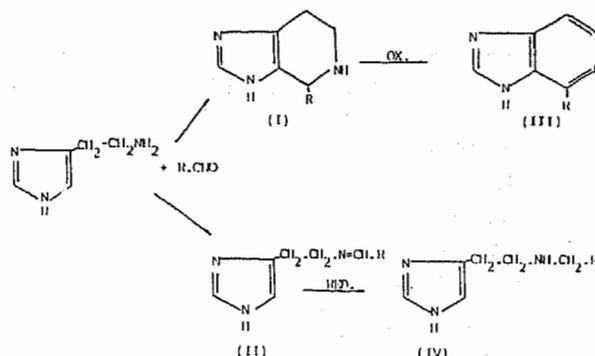
Figura 2

Evolución de la onda del Cr(VI) en presencia de histamina. 1) Cr(VI) $1,92 \cdot 10^{-4} M$; 2, 3 y 4, en presencia de histamina 10^{-4} , $6 \cdot 10^{-4}$, y $10^{-3} M$, respectivamente. Condiciones instrumentales: como en figura 1, salvo sensibilidad igual a 6 nA/mm.

Los resultados obtenidos muestran que en numerosos casos, en presencia de histamina, aparecen señales polarográficas más o menos desarrolladas, y diferentes de las del correspondiente compuesto carbonílico, lo que indica la formación de compuestos electroactivos. En la Tabla I se recogen sucintamente los resultados obtenidos, algunos de los cuales requieren un comentario más detallado.

Aldehidos

Comportamiento del acetaldehido. Las posibles reacciones de éste (y otros compuestos carbonílicos) con la histamina, pueden seguir el siguiente esquema:



El compuesto (I) o compuesto ciclado es susceptible de experimentar una reacción de oxidación con pérdida de cuatro protones y cuatro electrones para dar (III), mientras la base de Schiff (II), puede experimentar una reducción con ganancia de dos protones y dos electrones sobre el doble enlace del grupo imino. Para el caso concreto del acetaldehido, en la bibliografía se ha descrito la formación de una imina, a la que correspondería la estructura II, que muestra una onda de reducción en PCC (4). Por nuestra parte, y en las mismas condiciones que Sellers y col. pero trabajando a pH 10, hemos comprobado la existencia de la mencionada onda, así como la de un pico bien definido en PDP, de mayor intensidad que la anterior. Los resultados obtenidos indican un intercambio de dos electrones, lo que sería congruente con la reducción del grupo imino. Un estudio previo en PDP sobre la influencia del pH sobre este pico condujo a la conclusión de que la mayor intensidad del mismo se obtiene a pH 8,6-8,7. Dado que este valor de pH óptimo hallado para la reacción con acetaldehido es también adecuado para permitir la existencia de la histamina en su forma libre y, por tanto, para el estudio de otras reacciones de condensación, todos los demás compuestos carbonílicos se ensayaron en las mismas condiciones que el acetaldehido.

Formaldehido. Su producto de reacción con histamina no presenta ondas de reducción. Esto parece indicar que la reacción, en estas condiciones, no transcurre a través de la formación de la base de Schiff sino por un mecanismo de ciclación como el propuesto por Vitali (7), lo que llevaría a la formación de un compuesto no electrorreducible pero que, análogamente a las especies cíclicas formadas por reacción de indolaminas con formaldehido (8), sería susceptible de experimentar oxidación para dar un derivado fluorescente.

Heptanal. La presencia de histamina origina dos picos a -1,12 y -1,32 V, lo que sugiere la formación de una base de Schiff. El primer pico es de pequeña magnitud.

Acroleína. La adición de histamina provoca que el pico intenso del aldehido a -1,3 V sea sustituido por otros dos picos intensos en -1,22 y -1,43 y otro más débil en -1,03 V, como se aprecia en la fig. 3. La reacción debe conducir a la formación de una base de Schiff en la que se originaría un sistema de dobles enlaces conjugados que explicaría la aparición de varias ondas de reducción.

Benzaldehido. Se aprecia la formación de un pico de gran intensidad, pero no muy bien definido. Por tanto, la reacción debe cursar con la formación de una base de Schiff.

Orto-e iso-ftalaldehido. Según los antecedentes bibliográficos, el o-ftalaldehido forma con histamina un compuesto utilizado para su determinación fluorimétrica

TABLA I

| <u>ALDEHIDO/CETONA</u> | <u>E_p (V)</u> | <u>I_p (μA)</u> |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Acetaldehido | - 1.336 b | 0.235 |
| Benzaldehido | - 1.064 i | 1.190 |
| Piridincarbaldhido | NR | — |
| 2,5-dihidroxibenzaldehido | NR | — |
| Formaldehido | NR | — |
| Salicilaldehido | - 1.130 b | 0.068 |
| 2-nitrobenzaldehido | - 1.040 i | 0.098 |
| o-ftalaldehido | - 0.900 i | 0.635 |
| iso-ftalaldehido | - 0.970 b | 0.221 |
| Heptanal | - 1.320 b | 0.020 |
| Acroleína | - 1.220 b; - 1.430 b | 0.123; 0.105 |
| Fenil-2-piridilcetona | NR | — |
| 2, 3-butanodiona | - 0.750 i | 0.110 |
| 2-hidroxi-1.4-naftoquinona | - 1.230 i | 0.023 |
| Isatina | - 1.400 i | 0.252 |
| Acetilacetona | - 1.110 b | 0.004 |
| 1,2-ciclohexasodiona | - 1.100 b | 0.014 |
| Dimedona | - 1.080 i | 0.013 |

[Hist.] = 10⁻⁴M. b: onda bien definida, i: onda mal definida. NR: no da onda.

(9, 10), aunque parece ser que no es electroactivo (5). Cuando la reacción se practica en presencia de mercaptoetanol, se forma un derivado del isoindol que también puede detectarse por espectrofluorimetría y por oxidación electroquímica (5). Los resultados experimentales obtenidos por nosotros se muestran de acuerdo con la bibliografía, pues aunque el o-ftalaldehido presenta picos polarográficos, éstos no se modifican ni aparecen otros nuevos con la adición de histamina. Por el contrario, el iso-ftalaldehido, que exhibe dos picos parcialmente solapados en -1,01 y -1,15 V, en presencia de histamina da lugar a la aparición de un pico nuevo a -0,77 V, menor que los anteriores, pero perfectamente definido y simétrico y cuya I_p es proporcional a la concentración de histamina. Los resultados anteriores parecen indicar que la formación de una base de Schiff está más favorecida para el iso- que para el orto-ftalaldehido.

Cetonas

Su comportamiento con histamina difiere de los aldehidos pues aunque podría admitirse que los productos de reacción son bases de Schiff, en la mayoría de los casos las ondas están poco definidas o son de poca intensidad. Los mejores resultados se obtienen en el caso de la isatina.

CONCLUSIONES

Del presente trabajo se deduce que, aun cuando la

bibliografía sobre la histamina es bastante abundante, existe una importante laguna en relación con el estudio polarográfico de su comportamiento frente a los iones metálicos, y en sus reacciones de condensación con compuestos carbonílicos. En este estudio previo hemos comprobado que la histamina forma complejos con muchos iones metálicos, aunque la mayoría son no electroactivos. Para los cationes que forman este tipo de complejos, las variaciones de su I_p con el incremento de la concentración de histamina no son adecuadas para establecer métodos de determinación de la misma, aunque nos han permitido confirmar la estequiometría de los complejos. Por el contrario, los casos del V(V), que parece formar varios compuestos electroactivos, y del Cr(VI), cuya onda se exalta con pequeñas cantidades de histamina, podrían, quizás, utilizarse para establecer determinaciones cuantitativas de histamina, y en la actualidad son objeto de un estudio más amplio.

Respecto a sus reacciones con compuestos carbonílicos, debe destacarse que con muchos aldehidos forma bases de Schiff electroreducibles, que parecen adecuados para el establecimiento de métodos cuantitativos. Los resultados obtenidos son especialmente buenos con acetaldehido, iso-ftalaldehido y acroleína. Con otros, como el benzaldehido, los picos son muy intensos pero peor definidos. Todo ello será objeto de un estudio posterior ya iniciado con el acetaldehido.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen a la CAICYT (Proyecto PA 85/264) la aportación económica recibida para la realización de este trabajo.

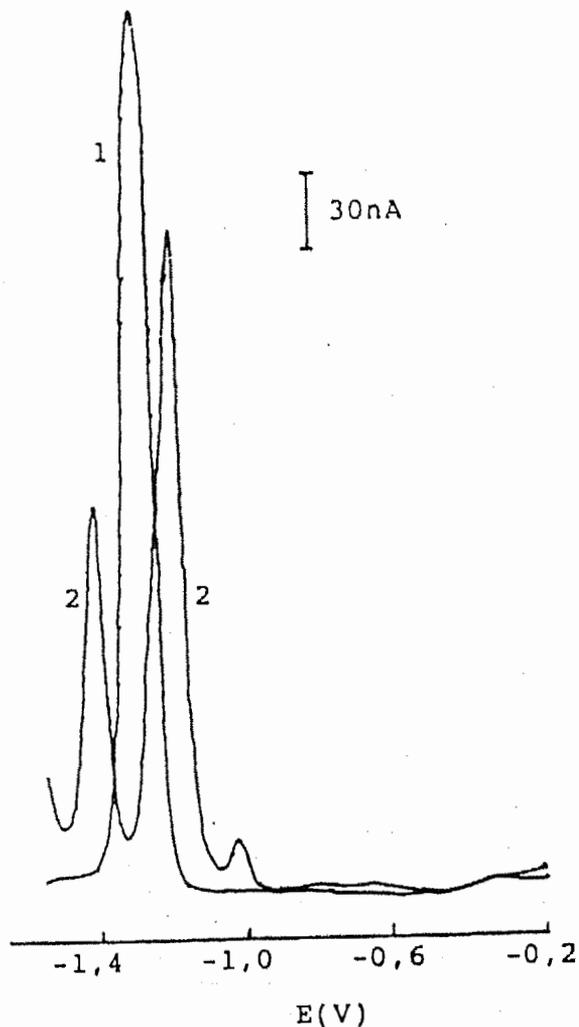


Figura 3

1) Acroleina $10^{-4}M$; 2) histamina y acroleina $10^{-4}M$. Condiciones instrumentales: como en figura 1, salvo sensibilidad igual a $1,5 \text{ nA/mm}$.

REFERENCIAS

1. FISCHER, B. and SCHMUTZLER, W.: *Allergologie*, 1980, **3(6)**, 356-63.
2. BLAIS, M.J.; KAYNLI A. y BERTHON, G.; *Inorg. Chim. Acta* 56, 5-14 (1981).
3. CHAMPY-HATEM, S.; *Experientia*, **16**, 494-5 (1960).
4. SELLERS, D.E.; GREENLEE, K.L. y VAN ATTA, R.E.; *Anal. Chem.* **34**, 441-2 (1962).
5. HARSING Jr, L.G.; NAGASHIMA, H.; VIZI, E.S. y DUNCALF, D.; *J. of Chrom. Biol. Applic.*, **383**, 19-26 (1986).
6. JIMENEZ SANCHEZ, J.C.; MUÑOZ LEYVA, J.A. y ROMAN CEBA, M.; *Anal. Chim. Acta*, **90**, 223-231 (1977).
7. VITALI, T.; MOSSINI, F. and BERTACCINI, G.; *Farmaco (Pavia) Ed. Sci.*, **20(9)**, 634-9 (1965).
8. BAKER, G.B. y R.T. CONTTS; (Eds.) "Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry (Vol. 4). Evaluation of Analytical Methods in Biological Systems. Part. A: Analysis of Biogenic Amines"; Elsevier, Amsterdam (1982).
9. SHORE, P.A.; BURKHALTER, A. y COHN, Jr, V.H.; *J. Pharmacol, Exp. Ther.*, **127**, 182 (1959).
10. LORENZ, W.; BENESCH, L.; BARTH, H.; MATEJKA, E.; MAYER, R.; KUSCHE, J.; HUNTZEL, M. and WERLE, E.; *Z. Anal. Chem.* **252**, 94 (1970).