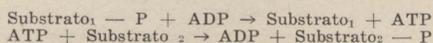


Una nueva reacción de transfosforilación enzimática

POR R. E. TRUCCO, C. E. CARDINI, A. C. PALADINI, R. CAPUTTO Y L. F. LELOIR

(Instituto de Investigaciones Bioquímicas - Fundación Campomar. Julián Álvarez 1719 - Buenos Aires)

En el curso del metabolismo ocurre repetidas veces el pasaje de un grupo fosfato de un compuesto a otro. En casi todos los ejemplos conocidos estas transferencias se efectúan con la intervención del sistema del ácido adenílico (ácido adenílico o adenosinmonofosfórico: AMP; ácido adenosindifosfórico: ADP, y ácido adenosintrifosfórico: ATP) de acuerdo con las reacciones:



El fosfato del substrato, se transfiere al ADP transformándolo en ATP, del cual puede pasar a un segundo substrato, o bien liberarse como fosfato inorgánico por acción de una enzima hidrolítica (por ej., adenosintrifosfatasa).

Axelrod (1) comprobó experimentalmente, por primera vez, que puede realizarse un pasaje de fosfato sin intervención del sistema del ácido adenílico. Por acción de la fosfatasa ácida de los citrus demostró que el fenilfosfato es capaz de transferir su fósforo al alcohol etílico dando un éster. Meyerhof y Green (2) señalaron la posibilidad de un proceso análogo entre el ácido creatinfosfórico y el glicerol catalizado por la fosfatasa ácida intestinal.

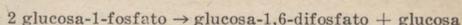
Los ejemplos mejor conocidos de este tipo de transferencias de importancia biológica son actualmente los de la fosfoglucomutasa y de la fosfogliceromutasa del músculo y de la levadura. La primera enzima realiza la transferencia del fósforo de la posición uno del glucosa-1,6-difosfato a la posición 6 del glucosa-1-fosfato. El glucosa difosfato actúa como catalizador, siendo el resultado neto la transformación del glucosa fosfato en glucosa-6-fosfato (3) (reacción II).

La fosfogliceromutasa cataliza una reacción similar a la anterior, siendo el resultado neto la transformación reversible del ácido 2-fosfoglicérico en ácido 3-fosfoglicérico. Aquí actúa como coenzima el ácido 2,3-difosfoglicérico (4).

Una transferencia similar, pero no igual a las anteriores, ha sido hallada estudiando la formación del glucosa-1,6-difosfato por el *Escherichia coli*.

Se comprobó que este microbio es capaz de utilizar glucosa-1-fosfato dando origen al diéster, el cual se acumula en el medio de cultivo. Además fué posible obtener extractos libres de células, en los que se comprobó la existencia de un sistema enzimático que efectúa la síntesis de glucosa difosfato sin requerir un proceso

oxidativo o fermentativo simultáneo (5). De acuerdo a los balances efectuados la reacción puede formularse así:



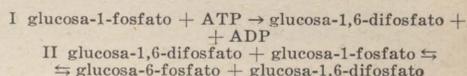
El proceso es aparentemente análogo al de la fosfoglucomutasa de la levadura y del músculo (reacción II), con la diferencia de que aquí el dador de fósforo no es el diéster sino otra molécula del mismo monoéster.

Además de esta transfosforilasa se encuentra en los extractos de *Escherichia coli* una fosfatasa entre cuyas acciones está la de transformar la glucosa-1,6-difosfato en glucosa-6-fosfato.

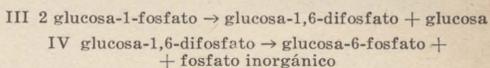
Esto hace pensar que sea éste uno de los mecanismos de transformación del glucosa-1-fosfato en glucosa-6-fosfato.

Las reacciones que tienen lugar en el *Escherichia coli*, en el músculo y en la levadura de cerveza son, por consiguiente, diferentes, tanto en la síntesis del glucosa-1,6-difosfato (reacciones I y III) como en la formación del glucosa-6-fosfato (reacciones II y IV).

Músculo y levadura:



Escherichia coli:



Junto con el *E. coli* fueron ensayadas otras bacterias, pero sólo se obtuvieron resultados positivos con dos representantes más de la tribu *Escherichia*, la *Klebsiella friedländer* y el *Aerobacter aerogenes*.

Otro hecho interesante que ha surgido de esta investigación con el *Escherichia coli* es el del pasaje a través de la membrana microbiana de ésteres fosfóricos. En general, se admite que los ésteres fosfóricos no atraviesan las membranas celulares y por ello no son utilizados. Se ha podido demostrar que los microbios vivos fermentan el glucosa-1-fosfato sin desdoblamiento previamente y devuelven al medio una apreciable proporción del mismo (alrededor del 7%) al estado de glucosa difosfato.

(1) AXELROD, B.: *J. Biol. Chem.*, 1948, 172, 1; 176, 295.

(2) MEYERHOF, O., GREEN, H.: *J. Biol. Chem.*, 1949, 178, 655.

(3) LELOIR, L. F., TRUCCO, R. E., CARDINI, C. E., PALADINI, A., CAPUTTO, R.: *Arch. Biochem.*, 1948, 19, 339; CARDINI, C. E., PALADINI, A. C., CAPUTTO, R., LELOIR, L. F., TRUCCO, R. E.: *Arch. Biochem.*, 1949, 22, 87; TRUCCO, R. E., CARDINI, C. E., PALADINI, A.; CAPUTTO, R., LELOIR, L. F.: *Ciencia e invest.*, 1948, 4, 433.

(4) SUTHERLAND, E. W., POSTERNAK, T. Z., CORI, C. F.: *J. Biol. Chem.*, 1949, 179, 501.

(5) LELOIR, L. F., TRUCCO, R. E., CARDINI, C. E., PALADINI, A. C., CAPUTTO, R.: *Arch. Biochem.* (En prensa).

(6) PALADINI, A. C., CAPUTTO, R., LEOIR, L. F., TRUCCO, R. E., CARDINI, C. E.: *Arch. Biochem.* (En prensa).

Evaluación del nitrógeno orgánico en suelos por Kjeldahl sin destilación

Por la DRA. MARÍA A. S. DE RONDINI.

(Laboratorio de Microbiología y Bioquímica
División Edafología - Instituto de Suelos y
Agrotecnia)

Un estudio detallado pone en evidencia las ventajas que sobre el Kjeldahl clásico presenta el procedimiento de eliminar la destilación reemplazándola por la valoración directa del ion amonio en la solución, producto de la destilación.

Al mismo tiempo se investigaron los factores que precisan la sensibilidad y exactitud, detalles importantes en el caso de los suelos, cuyo tenor normal en nitrógeno es de 80-500 mg. por cada 100 gramos.

Dos puntos principales se tuvieron en cuenta al realizar este trabajo:

1) Precisar con detalle el tiempo exacto que debe durar la digestión de la sustancia orgánica cuando se utiliza selenio como catalizador; pues se ha comprobado que prolongando la digestión se obtienen pérdidas de nitrógeno.

2) Reemplazar la destilación por una titulación acidimétrica, operación rápida y de igual sensibilidad.

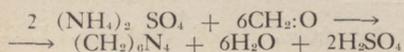
La técnica adoptada consiste en:

a) Mineralizar el nitrógeno por medio del ácido sulfúrico y del calor en presencia de selenio metálico.

En el caso de suelos, esa digestión ha sido establecida en 15 minutos de duración, debiéndose fijar el tiempo adecuado si se trata de otra sustancia orgánica.

b) Neutralizar, en la solución de la digestión, el exceso de ácido sulfúrico con hidróxido de sodio 10 veces normal; tratándose de suelos, en esta operación precipitan simultáneamente los óxidos de hierro y de aluminio, que deben ser eliminados por filtración para facilitar la titulación final.

c) Valorar el ion amonio, utilizando una solución neutra de formaldehído diluida al 18 %.



La reacción produce hexametilentetramina (neutra) y ácido sulfúrico, en cantidad equi-

valente al amoníaco, en el producto de la digestión.

Por titulación acidimétrica se determina la cantidad de ácido formado, empleando hidróxido de sodio, décimo normal, en presencia de fenolftaleína.

Se comparan las dos técnicas mencionadas del método Kjeldahl, con destilación y sin ella, en suelos típicos, argentinos, de regiones geográficamente bien diferenciadas.

Se comprueba que:

1) La eliminación de la destilación en el Kjeldahl, no altera en lo más mínimo su sensibilidad.

2) El método es de una rapidez apreciable; permite realizar unas diez muestras de suelos, por duplicado, en tres horas aproximadamente.

3) El método tiene una exactitud apreciable; utilizado en sustancias orgánicas de tenor conocido de nitrógeno, acusa un error de 0.02 %.

4) Dado que el método fué ensayado en muestras de distintas regiones, correspondientes a suelos de diferentes estados de evolución, se infiere que puede aplicarse a cualquier suelo, sin peligro de alterar la sensibilidad comprobada.

5) El procedimiento estudiado puede aplicarse también a la evaluación de nitrógeno orgánico de cualquier sustancia nitrogenada.

El trabajo realizado en el Instituto de Suelos y Agrotecnia, de la Dirección General de Investigaciones Agrícolas del Ministerio de Agricultura y Ganadería de la Nación será publicado en la Revista de Investigaciones Agrícolas, órgano de dicha Dirección.

Carencia de acción antimalárica de los alcaloides crudos del *Pogonopus tubulosus*

Por VENANCIO DEULOFEU

(Cátedra de Química Orgánica, II Curso. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, Buenos Aires)

El *Pogonopus tubulosus* es un arbusto de 3 a 5 metros de alto, perteneciente a la familia de las rutáceas, que crece en la República Argentina, encontrándose de preferencia en las Provincias de Salta y Jujuy. Se lo conoce también con el nombre de *Pogonopus febrifugus* y con los vulgares de cascarilla, quina morada y virreina del monte. Hieronymus (1) menciona que su corteza se usa como remedio eficaz en las fiebres intermitentes.

En 1888, Arata y Canzoneri (2) aislaron de una muestra de corteza, clasificada en forma incierta por el Dr. Domingo Parodi, y a la cual consideraron como de *P. tubulosus*, un