

La función de la vitamina B₆

Por LUIS F. LELOIR

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

YA AL poco tiempo de haber sido descubiertas las vitaminas, y debido a que con pequeñas cantidades se obtenían grandes efectos, se pensó que existía cierta similitud con la acción de los catalizadores. Una pequeña cantidad de un catalizador puede provocar la transformación de grandes cantidades de otra sustancia, y así, también, con dosis ínfimas de vitaminas se obtienen cambios espectaculares en los organismos.

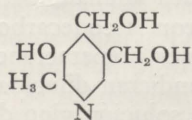
Ya que los catalizadores que utilizan los seres vivos son ciertas proteínas especiales llamadas enzimas, se pensó que era precisamente sobre las enzimas donde debían actuar las vitaminas. Los estudios sobre vitaminas y sobre enzimas se efectuaron independientemente durante los primeros años y la historia empieza más o menos en 1906, cuando por una parte Eijkman se convenció que el beri-beri era producido por la falta de una sustancia en la dieta, y cuando por otra parte Harden y Young observaron que ciertos extractos de levadura sólo fermentaban cuando se les agregaba una sustancia termoestable que denominaron cozimasa. Ahora se sabe que lo que tenía entre manos Eijkman era la vitamina B₁, o tiamina, que forma parte de una enzima, la carboxilasa; y se sabe también que la cozimasa de Harden y Young es un deri-

vado de una vitamina, el ácido nicotínico.

El primer caso en que se descubrió el papel que juega en el metabolismo una vitamina fué el de la riboflavina, que forma parte de algunas enzimas oxidantes. A los pocos años se descubrió el segundo caso, cuando se pudo averiguar que la tiamina es un componente de la enzima que cataliza la decarboxilación del ácido pirúvico.

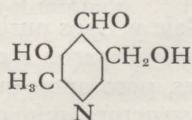
En los últimos años se ha progresado mucho en el conocimiento de la función de la vitamina B₆ y los estudios realizados son un ejemplo de cómo llegan a integrarse las nociones adquiridas en diversas ramas de la ciencia.

Ciertas bacterias de la leche necesitan varias vitaminas para poder crecer; entre otras, la vitamina B₆. La velocidad de crecimiento de los lactobacilos es proporcional a la concentración de vitaminas en el medio de cultivo y puede servir para medirlas. Fué así como Snell y colaboradores pudieron descubrir que, además de la piridoxina (I), habría otras sustancias similares que podían reemplazarla y que tenían una actividad mucho mayor. El nombre de vitamina B₆ puede, pues, darse a cualquiera de estas sustancias cuya identidad se pudo establecer por síntesis. Estas sustancias son: el piridoxal (II) y la piridoxamina (III).



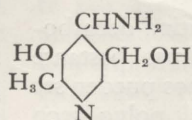
(I)

piridoxina



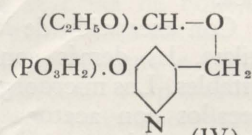
(II)

piridoxal



(III)

piridoxamina



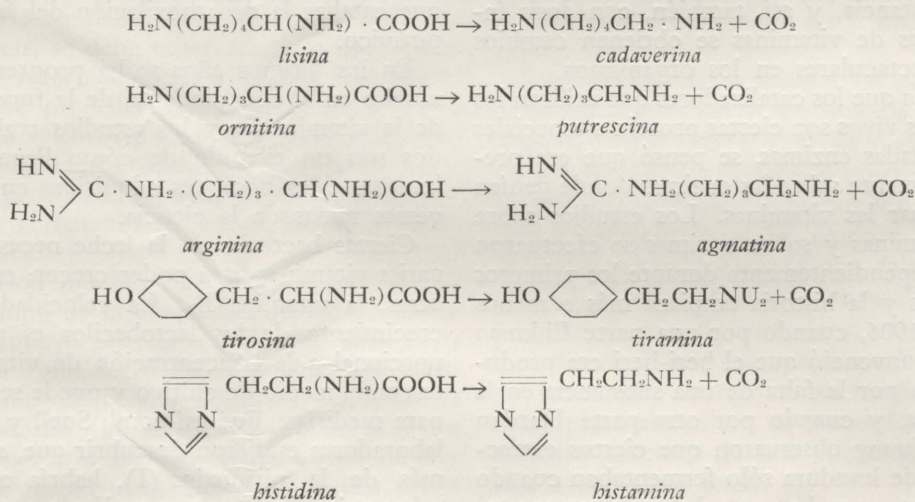
(IV)

piridoxal-acetal-fosfato

Seguramente sin sospechar que su trabajo tuviese nada que ver con las vitaminas, e interesados especialmente en el metabolismo de las bacterias, Gale y colaboradores⁽¹⁾ estudiaron ciertas enzimas que decarboxilan aminoácidos.

Estas decarboxilasas son enzimas adaptativas, es decir, que sólo se forman en cantidades apreciables cuando se cultiva al organismo en presencia del sustrato. Además favorece la formación de estas enzimas un medio de cultivo ácido. Varios microorganismos son capaces de formarlas, aunque ésta no es una propiedad muy general.

Las principales decarboxilasas son las que catalizan las decarboxilaciones siguientes:



En todas las reacciones se forma la amina correspondiente al aminoácido y anhídrido carbónico. El desprendimiento de dicho gas permite medir cómodamente la velocidad de cualquiera de las reacciones y con ello la actividad enzimática.

Con excepción de la ornitina-decarboxilasa, las demás son enzimas bastante estables. Los microorganismos pueden ser secados con acetona y del polvo seco así obtenido se pueden preparar soluciones de enzima libres de células.

Por elección del microorganismo, del

medio de cultivo y de las condiciones de extracción y purificación se han podido obtener enzimas específicas para cada uno de los aminoácidos antes mencionados y esto ha constituido un gran progreso en el dosaje de aminoácidos. Basta hidrolizar la proteína a estudiar y luego medir el desprendimiento de CO_2 en presencia de la decarboxilasa. El método permite medir pequeñas cantidades de aminoácido y es muy específico. El único inconveniente es que durante la hidrólisis puede ocurrir una racemización de parte del aminoácido, y esta parte se pierde en el análisis, ya que las decarboxilasas actúan exclusivamente sobre la forma *l* de los aminoácidos.

La necesidad de una coenzima fué ob-

servada primeramente en preparaciones de lisina-decarboxilasa precipitadas con sulfato de amonio en medio alcalino. Estas preparaciones eran inactivas de por sí, pero se reactivaban en presencia de extractos calentados de bacterias, levadura de cerveza o tejidos animales.

Gale y Epps purificaron la codecarboxilasa y llegaron a obtener preparaciones puras, pero antes que pudieran dilucidar su estructura química la solución vino de otro laboratorio.

Bellamy y Gunsalus⁽²⁾ observaron que cultivando *Streptococcus faecalis* en

un medio de cultivo simple y aun con agregado de tirosina la cantidad de tirosina-decarboxilasa formada era muy pequeña. Ensayaron la formación de decarboxilasa en presencia de diversas vitaminas del grupo B y consiguieron una considerable formación de decarboxilasa en presencia de piridoxina y ácido nicotínico. El piridoxal resultó ser aún más activo que la piridoxina, pero en bacterias secadas ninguno de los dos era capaz de restituir la actividad de la decarboxilasa. Pero si además de piridoxal se agregaba adenosín-trifosfato, se obtenía actividad de decarboxilasa. Ya que el adenosín-trifosfato es una substancia que actúa como fosforilante en los seres vivos se ensayó la fosforilación del piridoxal usando oxiclورو de fósforo.

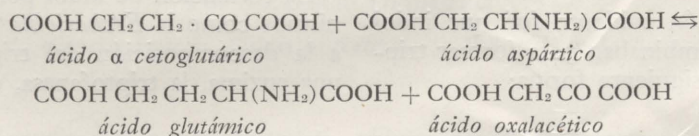
El piridoxal fosfato sintético resultó capaz de activar las decarboxilasas y es idéntico a la codecarboxilasa que había sido aislada por Gale y Epps.

Como el piridoxal tiene un grupo fenol y otro alcohólico primario, el tratamiento directo con oxiclورو de fósforo podría dar un producto con el grupo fos-

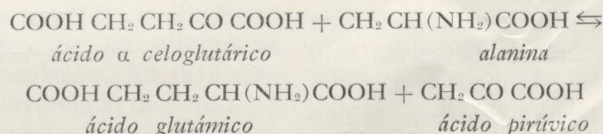
fato en ambas o en cualquiera de las dos posiciones antes mencionadas. Es por eso que Karrer⁽³⁾ usó el piridoxal acetal en el cual sólo queda libre el grupo fenólico. Fosforilando el piridoxal-acetal con oxiclورو de fósforo pudo obtener un compuesto cristalino cuya fórmula es la IV.

Este compuesto tiene débil actividad de codecarboxilasa y según últimos estudios (5 b) resulta que los compuestos con alta actividad no tienen el fosfato en posición 3.

Otro tipo de enzimas en las cuales juega un papel el piridoxal fosfato es el de las transaminasas. Estas enzimas fueron descubiertas por Braunstein y Kreitzmann⁽⁴⁾, y si es que se puede considerar que la cantidad de enzima que se encuentra en los tejidos animales es proporcional a la importancia de dicha enzima en los procesos metabólicos, entonces se debería concluir que las transaminasas deben desempeñar un papel muy importante en el metabolismo. Las principales reacciones catalizadas por las transaminasas son:



Esta reacción es catalizada por una enzima que se ha denominado transaminasa aspártico-glutámico, y existe otra⁽⁵⁾ que cataliza la reacción:

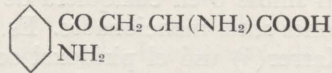


La segunda enzima se ha denominado transaminasa alanina-glutámico. Se las puede separar fácilmente una de la otra y han sido purificadas en alto grado.

Se ha demostrado que la vitamina B₆ interviene también en el metabolismo del triptófano(VII). En los animales con carencia de esta vitamina se excretan en la orina quinurenina(V) y ácido xanturénico(VI).

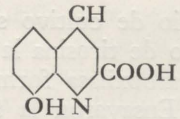
La quinurenina fué aislada primeramente por Kotake de la orina de conejos alimentados con arroz decorticado y con triptófano. La fórmula que le asignó este autor era incorrecta y posteriormente Butenandt⁽⁶⁾ y colaboradores, por vía sintética, pudieron establecer la fórmula correcta, que es la (V).

El ácido xanturénico (VI) tiene la propiedad de dar un color verde intenso



(V)

quinurenina



(VI)

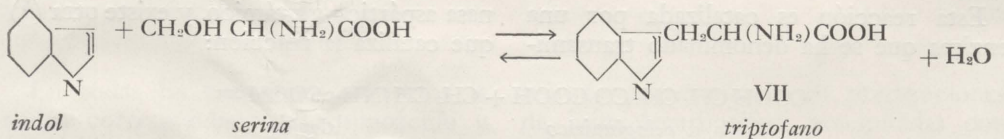
ácido xanturénico

en presencia de sales ferrosas y que sirve como método de dosaje.

Es interesante mencionar que la quinurenina tiene la propiedad de estimular la formación del pigmento marrón de los ojos en ciertas moscas. Algunas mutantes de estas moscas son incapaces de formar el pigmento marrón espontáneamente, pero pueden hacerlo si se les administra quinurenina. La explicación sería que en dichas mutantes falta el gene que forma una enzima necesaria para que se produzca quinurenina^(6, 7).

Otro tipo de mutante, no ya de mosca sino de un hongo: la *Neurospora*, necesita triptofano para crecer. Se han ensayado innumerables sustancias que pudieran reemplazar al triptofano y sólo la mezcla de indol y serina es capaz de reemplazarlo.

La deducción evidente fué que indol y serina se combinaban para formar triptofano en la siguiente forma:



Una prueba más directa se ha obtenido separando del mismo hongo una enzima que cataliza la reacción mencionada⁽⁸⁾.

Si dicha enzima se deja estacionar durante un tiempo pierde su actividad por destrucción de una de sus partes esenciales. Esta parte esencial de la enzima que se destruye más fácilmente es el piridoxal fosfato. En efecto, por agregado de esta sustancia la enzima recupera su actividad.

El descubrimiento de la función del piridoxal-fosfato en la reacción antes mencionada no aclara completamente el hecho de que los animales con carencia de vitamina B₆ eliminen derivados del triptofano como la quinurenina y el ácido xanturénico; sin embargo, podría suponerse que hay dos vías para la descomposición del triptofano. Una vía sería la descomposición en indol y serina y la otra sería la vía que lleva a quinurenina y xanturénico. En la avitaminosis B₆ la reacción que lleva a indol y serina estaría bloqueada por falta de piridoxal fosfato y entonces el triptofano iría a quinurenina y xanturénico. Todo esto es pura hipótesis y los hechos experimentales no tardarán en confirmarla o desecharla.

La formación de indol por microorganismos como la *Escherichia coli* se debe a la descomposición del triptofano por una enzima, la triptofanasa, que también

necesita piridoxal-fosfato, pero la reacción es distinta de la catalizada por los extractos de *Neurospora*. En este caso se trata de una descomposición del triptofano a indol, ácido pirúvico y amoníaco. Ni la serina, ni la alanina son intermediarios en este proceso⁽⁹⁾.

La serie de estudios que han llevado a aclarar en parte la función metabólica de la vitamina B₆ es un buen ejemplo de cómo estudiando organismos que a pri-

mera vista podrían parecer poco interesantes se llega a obtener resultados de aplicación más general y que facilitan el estudio de algunas de las reacciones químicas que tienen lugar en los animales superiores.

BIBLIOGRAFÍA

- (1) GALE, E. F.: *Advances in Enzymology*, 1946, 6, 1.
(2) BELLAMY, W. D., GUNSALUS, I. C.: *J. Bact.*, 1944, 48, 191.

- (3) KARRER, P., VISCONTINI, M.: *Helv. Chem. Acta*, 1947, 30, 52.
(4) BRAUNSTEIN, A. E.: *Advances in Protein Chemistry*, 1947, 3, 2.
(5) GREEN, D. E., LELOIR, L. F., NOCITO, V.: *J. Biol. Chem.* 1945, 161, 559.
(5 b) GUNSALUS, I. E., UMBREIT, W. W.: *J. Biol. Chem.* 1947, 170, 415.
(6) BUTENANDT, A., WEIDEL, W., WEICHERT, R., VON DERJUGIN, W.: *H. Seylers Z.*, 1943, 279, 27.
(7) TATUM, E. L., BEADLE, G. W.: *Science*, 1940, 91, 458.
(8) UMBREIT, W. W., WOOD, W. A., GUNSALUS, I. C.: *J. Biol. Chem.*, 1946, 165, 731.
(9) WOOD, W. A., GUNSALUS, I. C., UMBREIT, W. W.: *J. Biol. Chem.*, 1947, 170, 313.

Investigaciones químicas sobre productos naturales

POR VENANCIO DEULOFEU

(Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales - Universidad de Buenos Aires)

Es sólo después de la organización nacional que aparecen en el país contribuciones al conocimiento de nuestros productos naturales. Uno de los campos en que actúan los estudiosos es el estudio químico de las substancias contenidas en los vegetales. En 1858 aparece la primera contribución de Parodi⁽¹⁾ sobre la resina de *timbatí*, para ser continuada por otras memorias. En 1877 Arata publica su estudio sobre el mio mio⁽²⁾ y su labor se continúa durante quince años, durante los cuales aparece un considerable número de estudios de nuestros vegetales, debidos a su firma. A comienzos del siglo Domínguez, en 1900⁽³⁾, y Herrero Ducloux, en 1901⁽⁴⁾, inician sus trabajos sobre plantas argentinas que el primero condensará en su obra "Con-

tribuciones a la Materia Médica Argentina" y el segundo continuará con estudios sobre muy diversos vegetales.

No se hacía con estos trabajos sino contribuir a una tarea en la cual se habían adelantado laboratorios extranjeros, que todavía continúa en nuestros días, y con la cual sólo podemos competir mediante la creación de una organización adecuada de investigación y la formación del personal para realizarlas.

Es verdad que actualmente se nota un aumento en el interés por estudiar los componentes fundamentales de nuestras plantas. Son varios los estudiosos que han hecho y continúan haciendo investigaciones en ese sentido, realizando aportes importantes a su conocimiento.