

(Primer Cuatrimestre, 1962)

(Prof. Dr. Naám Mittelman.)

1. Manometría y Metabolismo. Generalidades sobre gases ideales. Transformaciones isotérmicas, isobáricas o isocóricas. Ecuación general de estado; sus aplicaciones. Mezclas gaseosas ideales. Presión parcial y fracción molar. Teoría cinética de gases ideales. Gases reales. Solubilidad de gases en líquidos. Métodos manométricos en Bioquímica. Respirómetro de Warburg a volumen constante:  $K_{O_2}$ . Relaciones fundamentales: aplicaciones. Termobarómetro. Control de temperatura. Absorción de  $O_2$  y  $CO_2$ . Modos de expresar resultados. Método directo para  $CO_2$ ,  $CO_2$  y  $CO_3H^-$ . Ecuación de Henderson-Hasselbach: limitaciones y unidades, uso práctico. Buffers. Uso del buffer de bicarbonato para medir la producción de ácido en condiciones anaeróbicas. Influencia del carbonato. "Método indirecto" de Warburg. Ejemplos. Técnicas manométricas y metabolismo.
2. Soluciones de microsolutos. No electrolitos. Propiedades coligativas. soluciones electrolíticas. Equilibrios iónicos. Teoría de ácidos y bases, Curvas de titulación. Nociones de la teoría de las atracciones interiónicas. Electrolitos fuertes. Fuerza iónica. Coeficientes de actividad medio de electrolitos. Hidratación de iones. Química de la respiración. Balance ácido-base. Fisicoquímica de la sangre: consideraciones generales. Curvas de disociación de  $CO_2$ . Interacción de  $O_2$  y  $CO_2$  en la sangre y en soluciones de hemoglobina. Anhidrasa carbónica. Trabajos de Roughton.
3. Termodinámica en Bioquímica. Nociones básicas de termodinámica química. Primer y segundo principio de la termodinámica. Energía interna y entropía. Entalpía y calores de reacción. Energías de ligadura. Energía libre y constante de equilibrio. Potencial químico. Potencial de transferencia de grupo. Energía de ligadura y ligadura rica en energía: distinción entre ambos conceptos, ejemplos. Aplicación de la termodinámica y del equilibrio químico a sistemas bioquímicamente importantes: 1) el equilibrio fumarato-malato; 2) síntesis de la unión peptídica en la reacción entre benzoiltirosina y glicinamida, 3) la energía libre standard de hidrólisis de la adenosina trifosfato. Trabajos de Krebs, de Levinton y Meister, de Benzinger y colaboradores, de Alberty y colaboradores. Energía libre y metabolismo. Variación de energía libre de algunas reacciones típicamente bioquímicas. Acoplamiento de potenciales, síntesis bioquímica y los mecanismos al nivel molecular.



4. Cinética química. Velocidades de reacción. Orden y molecularidad. Velocidad específica de reacción. Análisis de los resultados obtenidos en una investigación cinética: métodos. Reacciones de orden cero, de primer orden y de segundo orden. Reacciones que no tienen un orden simple. Reacciones opuestas. Catálisis. Ley de Arrhenius. Complejo activado. Energía de activación. El factor frecuencia. Idea general sobre la teoría de las colisiones. Ideas fundamentales sobre la teoría absoluta de las velocidades de reacción. Reacciones complejas. Método del "estado estacionario".

Segunda Parte.

2º Cuatrimestre, 1962.

5. Cinética de las reacciones enzimáticas. Antecedentes; trabajos de Brown y Henry sobre inversión enzimática de la sacarosa. Hipótesis de Brown sobre el complejo enzima-sustrato. Carácter bifásico de las reacciones enzimáticas. Reacciones con un solo sustrato. Ley de Michaelis-Menten; constante de Michaelis. La modificación de Briggs-Haldane. Los tratamientos de Michaelis-Menten y Van Slyke-Cullen como casos límites de la ley de Briggs-Haldane. Análisis de los resultados experimentales: diversos métodos. Cálculo de constantes. Inhibición por sustrato. Centros activos e inactivos sobre la enzima. Inhibición competitiva y no-competitiva. Efecto del pH sobre  $K_m$  y  $V$ . Bases químicas de la inhibición. Efecto de la temperatura. Inactivación térmica. Naturaleza de la interacción enzima-sustrato. Algunas consideraciones sobre mecanismos.
6. Oxido-reducción biológica. Conceptos fundamentales en electroquímica. Electroodos simples. Acoplamiento de electrodos. Potenciales standard de oxidación. Ecuaciones de Nernst. Transferencia intermolecular de electrones. Pilas electroquímicas: clasificación. Electroodos secundarios de referencia. Medición potenciométrica de pH. Los potenciales de oxido-reducción y su relación con el pH. Buffers de óxido-reducción: su uso para la determinación de  $E^\circ$  de sistemas de interés biológico. Oxidación uni y bivalente. Efecto de ionización en las reacciones redox. Relaciones entre energía libre ( $\Delta F$ ) y potenciales de óxido-reducción. Relación entre la capacidad de combinación de enzimas y potencial de óxido-reducción. Trabajos de Theorell y Michaelis. El equilibrio de semiquinona. La escala rH de Dixon. Importancia biológica del potencial de óxido-reducción.



7. Amino-ácidos, péptidos y proteínas. Propiedades anfóteras. Iones dipolares. Fundamentos de la estructura iónica dipolar de amino-ácidos. Anfolitos simples y anfolitos polivalentes. Ácidos polivalentes. Constantes microscópicas y macroscópicas: caso del ácido glutámico. Determinación espectroscópica de constantes microscópicas: iónización de la cisteína. Punto isoeléctrico e iónico. Equilibrios iónicos en soluciones de anfolitos y ácidos polivalentes: ecuación de Lindarström - Lang. Efectos electrostáticos:  $\beta$ -lacto-globulina, ovoalbúmina, sueroalbúmina, ribonucleasa. Curvas de titulación. Contribución de las propiedades ácido-básicas a la dilucidación de problemas de estructura.
8. Equilibrios de membrana. Equilibrios de Gibbs-Donnan. Relación de distribución. Propiedades. Efecto Donnan y punto isoeléctrico. Potenciales de membrana. Presión osmótica de soluciones macromoleculares: el término osmótico de Donnan. Tratamiento de Scatchard: efecto de la carga neta del ión coloidal no difusible. Sistemas coloidales: definiciones básicas: sol, gel, coloides liofílicos y liofóbicos, coloides macromoleculares y de asociación, coloides electrolíticos (polielectrolitos). Cristales coloidales.
9. Tamaño y forma de macromoléculas. Revisión general de métodos más importantes. Difusión. Método de vidrio poroso (Northrup). Velocidad de sedimentación. Equilibrio de sedimentación. Fórmulas de Svedberg. Idea general de los métodos ópticos en ultracentrifugación y electroforesis. Hidratación y asimetría molecular. Viscosidad y difusión. Viscosidad de soluciones de proteínas. Efecto electroviscoso.. "Scattering": su aplicación a la determinación de tamaño y forma de macromoléculas altamente purificadas.  $R_{90}$ . Presión osmótica. Ventajas y limitaciones. Films monomoleculares. Ultracentrifugación. Algunas consideraciones sobre estructura de proteínas y ácidos nucleicos.
10. Fenómenos electrocinéticos. Electro-osmosis y potencial de corriente. Electroforesis y potencial de sedimentación. Electroforesis libre y el dispositivo de Tiselius. Ideas generales sobre la teoría de la doble capa eléctrica y su estructura. Potencial electrocinético.



INTRODUCCION A LA BIOQUIMICA FISICA. (1962.)

Trabajos Prácticos. Primer Parte.

( Jefe de Trabajos Prácticos : Dr. José SCHWARCZ)

Lic. Mario R.E. JELLINEK).

1. GASES. Experiencias de Boyle. Leyes de gases ideales, su verificación experimental. Cálculo del coeficiente térmico a presión constante del nitrógeno. Cálculo de R. Ecuación general de estado y de Van der Waals. Cálculo de las constantes de Van der Waals del anhídrido carbónico.
2. Determinación de densidades y pesos moleculares de vapores y líquidos volátiles orgánicos por el método de Victor Meyer.
3. Determinación de la densidad absoluta del  $\text{CO}_2$  por el método de la ampolla.
4. SOLUCIONES. Determinación de pesos moleculares de sustancias en solución por el método del descenso crioscópico.
5. Determinación del peso equivalente de un ácido orgánico desconocido.
6. Curva de titulación de un ácido fuerte con una base débil y de un ácido débil con una base fuerte con diferentes indicadores. Acidimetría. Alcalimetría. Cálculo de pK de un ácido débil.
7. pH-metría: Electrodo diversos. Uso de nomogramas para la preparación de Buffers de pH y fuerza iónica dadas. Calibración de un pH-metro.
8. Termoquímica: Calorimetría. Determinación de calores de reacción de disolución. Reacciones entre iones. Calibración de un calorímetro.
9. CINETICA QUIMICA. Velocidad específica de hidratación de acetato de etilo (Método conductimétrico).
10. Velocidad específica de inversión de la sacarosa. (Método polarimétrico).
11. CINETICA DE UNA REACCION ENZIMATICA: Determinación de la constante de Michaelis-Menten para el sistema urea-ureasa (Método fotolorimétrico). Cálculo de constantes termodinámicas a partir de datos cinéticos.
12. OXIDO-REDUCCION. Determinación del potencial standard de oxidación en base al uso de buffers de oxido-reducción. Influencia del pH.
13. CURVAS DE TITULACION DE ANFOLITOS: Titulación de amino-ácidos. Determinación de  $\text{pK}_1$  y  $\text{pK}_2$ .

...//...



14. Viscosimetría y potenciometría: pH-isoelectrico de proteínas en base a medidas de viscosidad.
  15. ADSORCION. Isoterma de adsorción de Freundlich y de Langmuir.
  16. CROMATOGRAFIA EN PAPEL. ( de aminoácidos y azucares): Cromatografía monodimensional ascendente, descendente, horizontal y circular. Cromatografía bidimensional. Análisis de incógnitas.
  17. Cromatografía en papel de hidrolizados proteínicos: Análisis cualitativo por cromatografía bidimensional.
  18. Cromatografía en columna. Cromatografía de absorción en óxido de aluminio. Determinación de los grados de Brockman. Uso del fraccionador automático y colorímetro d red de difracción.
  19. Cromatografía de partición sobre ácido silícico. Separación de dinitro-fenil aminoácidos.
  20. Cromatografía sobre resinas de intercambio iónico, su preparación. Gradientes de elución, su comprobación potenciométrica y conductimétrica.
-