

## Tesis de Posgrado

# Estudio químico de una porfirina excretada por heces de conejos intoxicados por plomo

Blech, Susana Marta

1953

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in [digital.bl.fcen.uba.ar](http://digital.bl.fcen.uba.ar). It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

**Cita tipo APA:**

Blech, Susana Marta. (1953). Estudio químico de una porfirina excretada por heces de conejos intoxicados por plomo. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0748\\_Blech.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0748_Blech.pdf)

**Cita tipo Chicago:**

Blech, Susana Marta. "Estudio químico de una porfirina excretada por heces de conejos intoxicados por plomo". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1953. [http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis\\_0748\\_Blech.pdf](http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0748_Blech.pdf)

**EXACTAS** UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



**UBA**

Universidad de Buenos Aires

Universidad Nacional de Buenos Aires

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

ESTUDIO QUIMICO DE UNA PORFIRINA

EXCRETADA POR HECEs DE CONEJOS

INTOXICADOS POR PLOMO

Resumen

Tesis presentada por

SUSANA MARTA BLECH

para optar al título de Doctor en Química

Cátedra de Química Biológica

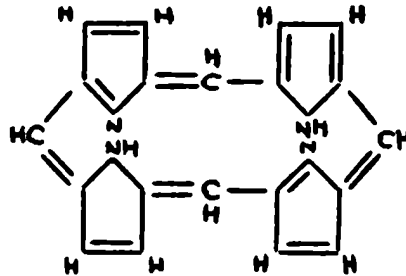
- 1953 -

TESIS 748

T. 2 - 748

# FORMA

En 1915 se inicia el estudio de las porfirinas; pues en este año Hans Fischer comienza a diferenciarlas en orina y heces. Las porfirinas son derivados de sustitución de los H<sup>β</sup> de los núcleos pirrólicos de la porfina cuya fórmula es la siguiente



En las porfirinas naturales los sustituyentes son - CH<sub>3</sub>; - C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>; -CH = CH<sub>2</sub>; - CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>- COOH; - CH<sub>2</sub> - COOH. Las porfirinas animales, naturales y sintéticas más conocidas son: Etioporfirina, Coproporfirina, Mesoporfirina, Protoporfirina, Deuteroporfirina, Hematoporfirina y Uroporfirina. Cada una de ellas admite un cierto número de isómeros que depende de los distintos grupos en sus cadenas laterales.

## PROPIEDADES

Son compuestos anfotéricos, de punto isoeléctrico Ph 3-4,5. Las porfirinas sin cadenas laterales ácidas pueden ser extraídas del éter solo por ácidos minerales fuertes. Las porfirinas de 2-4 grupos ácidos pasa de fase acuosa a éter Ph 3-4 y extraídas del éter por ácidos minerales o por álcalis como base. Las octacarboxílicas no pueden ser extraídas si no se esterifican. El color de las porfirinas es en general rojo violáceo, depende del Ph del medio. Los espectros de absorción son característicos, pero no sirven para diferenciar isómeros. Tiene espectro típico en zona visible de cuatro bandas. Tienen la propiedad de formar sales complejas. Las más importantes son la de hierro (hematina) y de magnesio (clorófila). Las porfirinas son fluorescentes en solución. Las porfirinas se esterifican fácilmente, especialmente con metanol. Se aprovecha esta propiedad para identificarlas, pues su éster tiene PF característicos contrariamente a las porfirinas libres y permite diferenciar isómeros. Los ésteres cristalizan con relativa facilidad.

## INVESTIGACION DE PORFIRINAS

Extracción según método de Fischer. Consiste en la extracción de las porfirinas por éter etílico; del material acidificado por ácido acético, su empleo está limitado a la separación de porfirinas solubles en dicho disolvente e sea coproporfirina, deuteroporfirina y protoporfirina. Del éter previamente lavado con acetato de sodio 4% se extraen las porfirinas con ácido clorhídrico 5%; para purificar las soluciones se hacen pasajes sucesivos al éter (después de neutralizar con acetato de sodio) y finalmente a ácido clorhídrico.

Luego se esterifica siguiendo el método de Fischer. La porfirina seca se cubre con alcohol metílico saturado de ácido clorhídrico seco; Después de 4 horas de estacionamiento la solución se trata con cloroforme y agua destilada; el ester pasa al cloroforme. Separar la solución cloroformica, lavarla con agua destilada, amoníaco 10%, cloruro de sodio 7%; filtrar y concentrar al vacío.

#### Cromatografía

Se sigue la técnica de Tswett; adsorbente carbonato de calcio precipitado pesado. Solvente de adsorción benceno: eter de petróleo. Solvente de desarrollo benceno cloroforme. Se separan las bandas y se eluye con cloroforme. Se filtra y se concentra a sequedad a vacío.

#### Cristalización de cloroforme metanol

Observación microscópica y determinación del punto de fusión.

#### Cromatografía sobre papel de filtro

Se siguió técnica de doble desarrollo de Consden, Gordon y Martín. Se usó sistema de solventes cloroforme-kerosene y alcohol isopropílico-kerosene. Las manchas se ponen de manifiesto por su fluorescencia bajo luz ultravioleta. La cromatografía de papel, separa isómeros no así la de columna.

#### INVESTIGACION DE PORFIRINAS EN MATERIA FECAL DE CONEJOS

Se siguió el método usado por Schwarz. Separa coproporfirina de protoporfirina y deuteroporfirina.

#### INVESTIGACIONES ESPECIALES

Identificación de protoporfirina por su transformación en mesoporfirina según método de Fischer (determinación de su PF y espectro de absorción).

#### PARTE EXPERIMENTAL

Intoxicación de conejos. Comprobación de su intoxicación por investigación de coproporfirina en orina.

Extracción del material según método de Fischer.

Esterificación siguiendo método de Fischer.

Cromatografía usando adsorbente carbonato de calcio precipitado pesado.

Solvente de adsorción benceno: eter de petróleo 2-1.

Solvente de desarrollo benceno: cloroforme 12-1

Elución: cloroforme

Separación de banda y cromatografía hasta banda única.

Cristalización de cloroforme metanol hasta PF constante. PF 214°C a 216°C.

Observación microscópica cristales primáticos asociados en rosetas.

Se comparó la porfirina obtenida con protoporfirina IX.

PF de protoporfirina 224°C - 226°C. Cristales en forma de agujas asociados en rosetas.

Se hizo la mezcla de ambas porfirinas y se efectuó cromatografía de columna;

# Porfina

no hubo separación de bandas.

Se hizo cromatografía de papel. Los Rf son similares y no hubo separación de manchas.

Porfirina obtenida Rf	0,85
Protoporfirina IX Rf	0,82
Mezcla de ambas Rf	0,81

Espectros de absorción. Máximo de absorción para los ésteres metílicos.

Porfirina obtenida	626 mμ
Protoporfirina IX	630 mμ

Separación e investigación de porfirinas fecales de conejos; siguiendo método usado por Schwartz.

Se identificó deuteroporfirina (pequeña cantidad) y protoporfirina en cantidad mayor.

Identificación de protoporfirina. A través de su transformación en mesoporfirina PF 209°C - 210°C. Longitud de onda en su máximo de absorción 620 mμ.

## C O N C L U S I O N

La porfirina estudiada es en su mayor parte protoporfirina impurificada con otras porfirinas, muy probablemente la deuteroporfirina; que las condiciones de nuestra técnica no han podido separar.-

1964

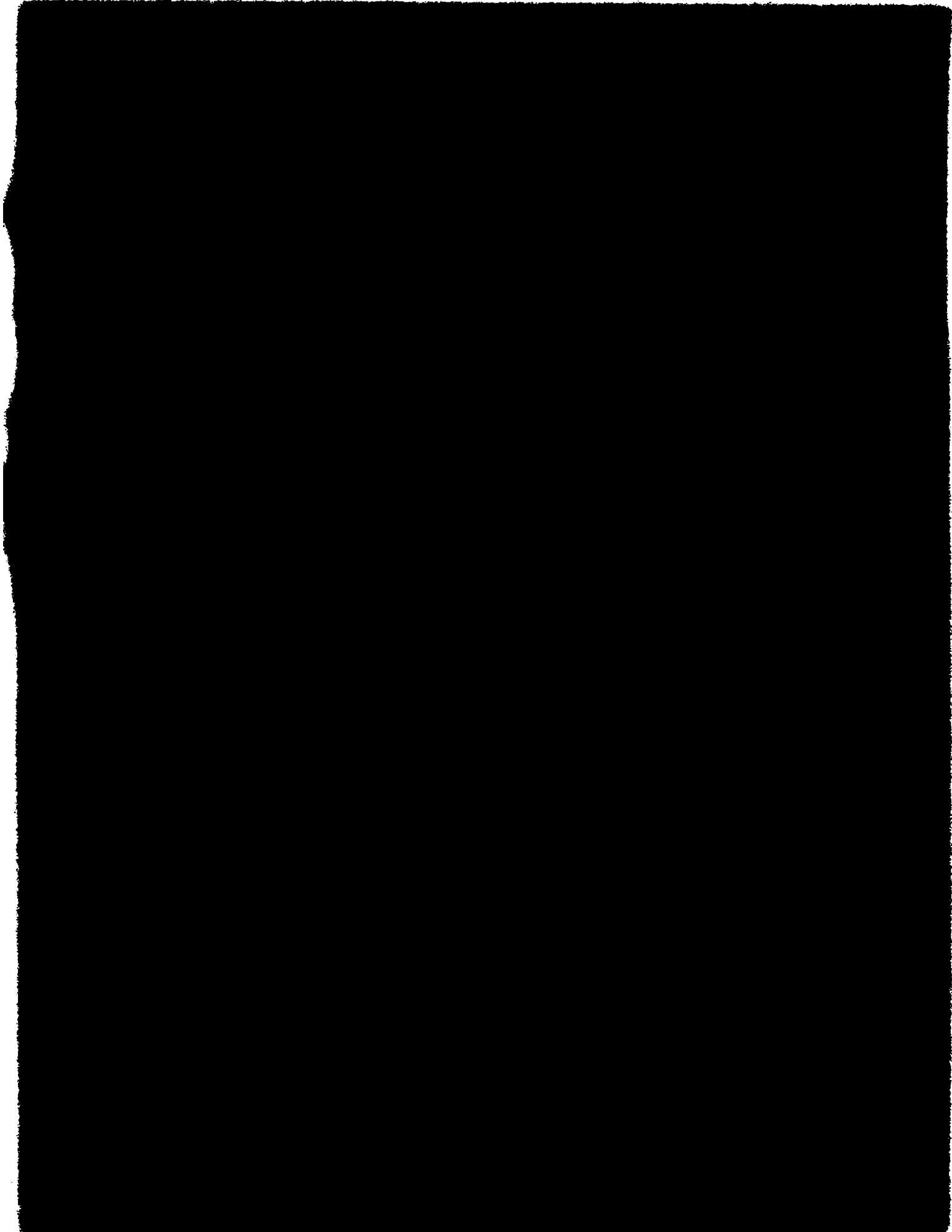
Wm. G. ...  
J. ...

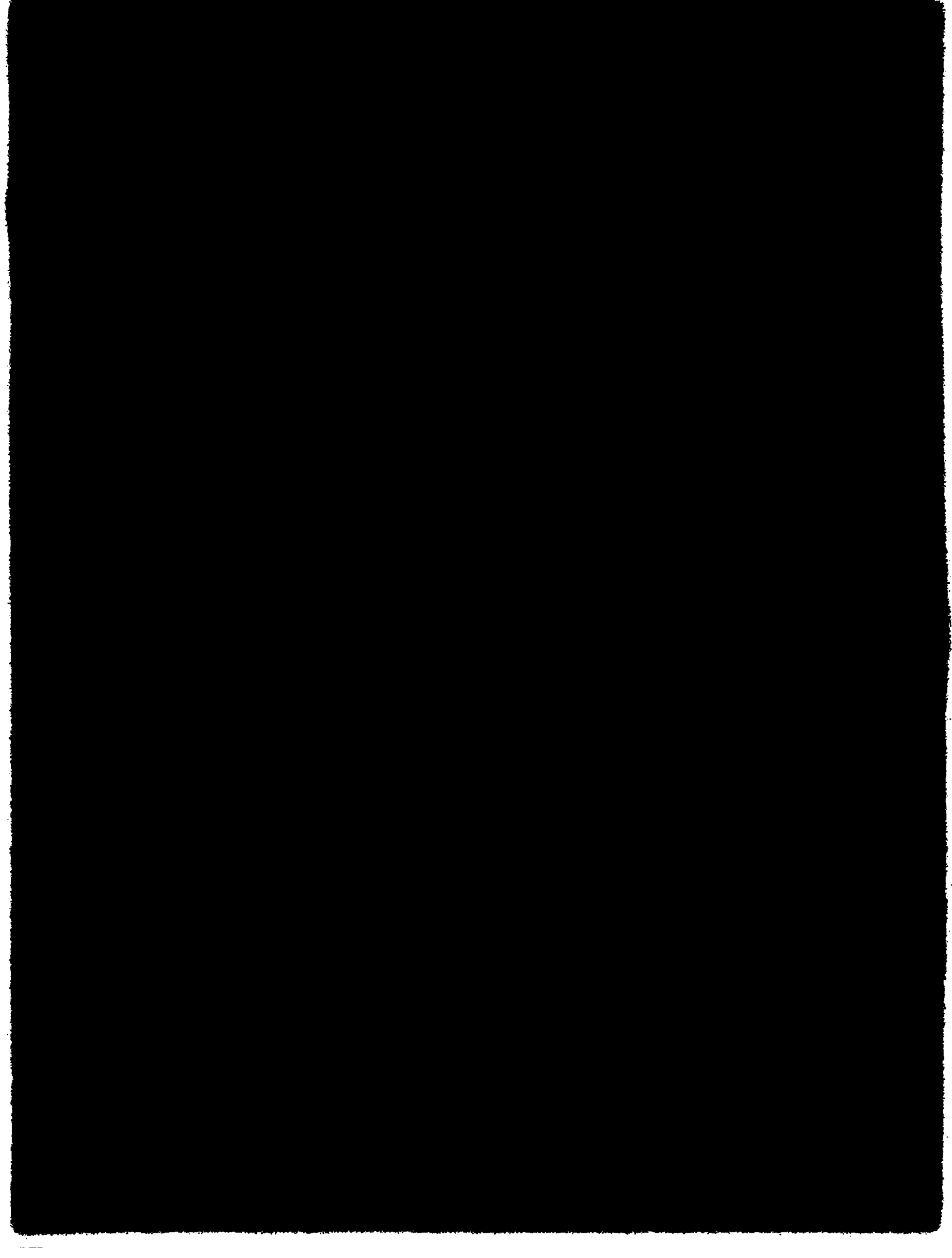
TESIS

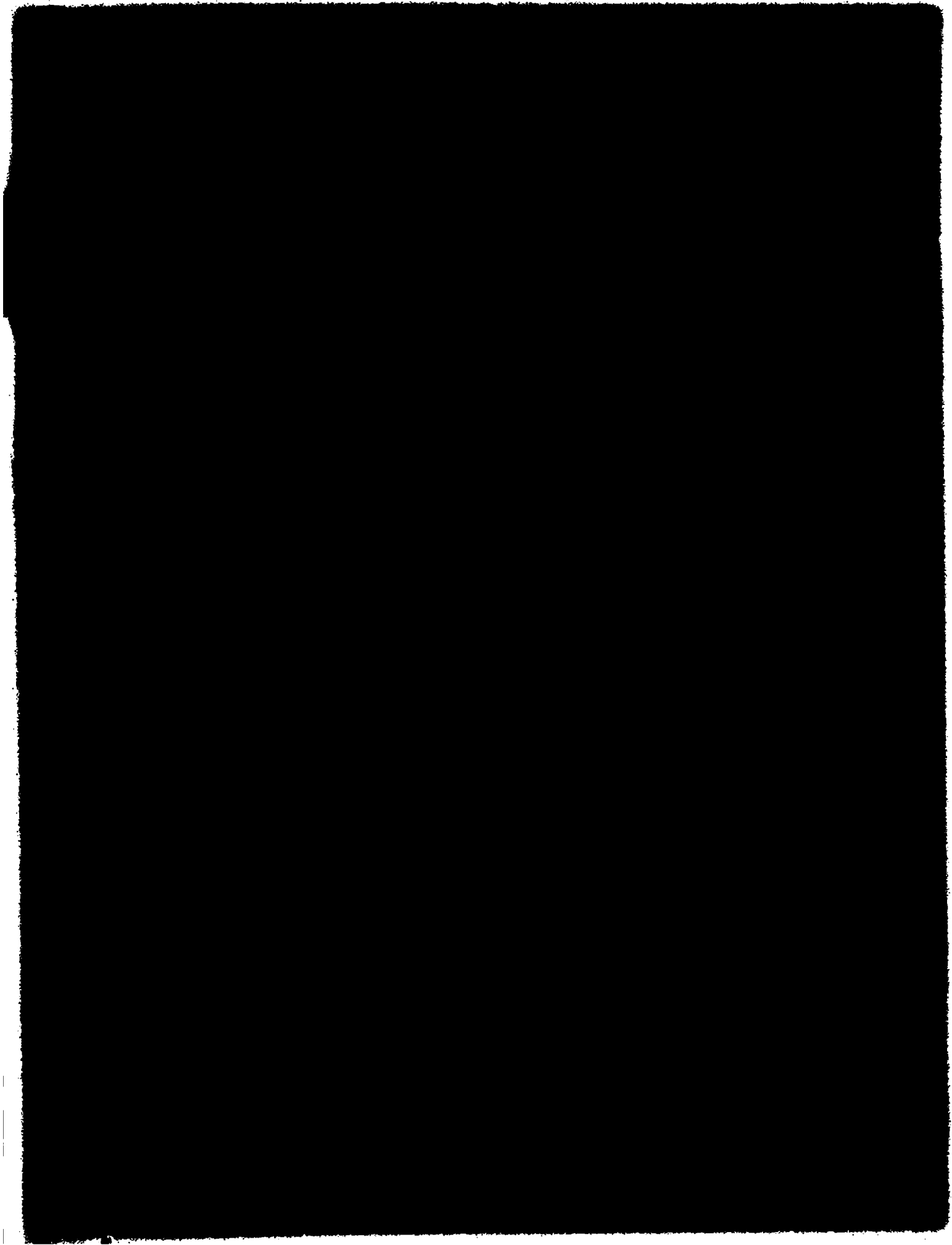
1944

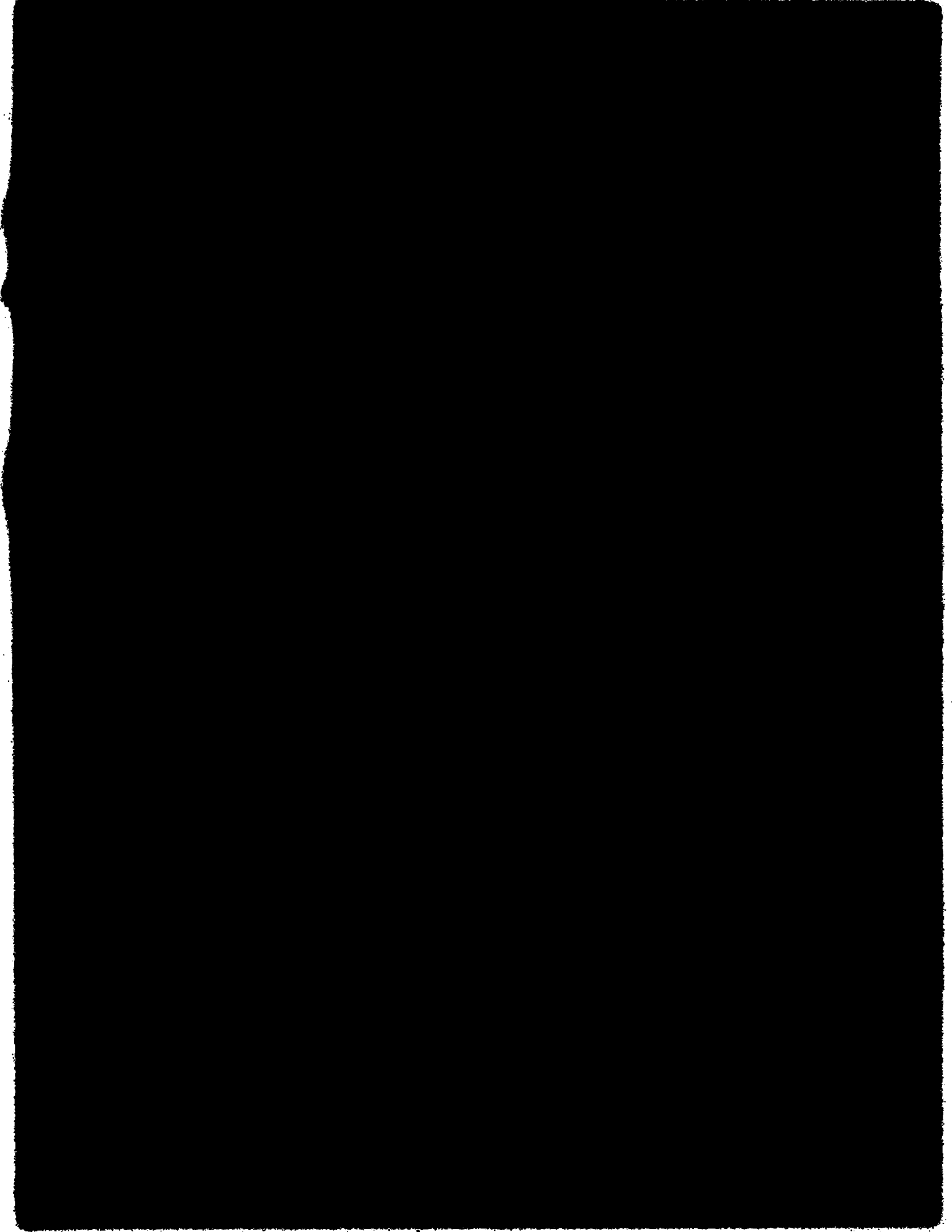


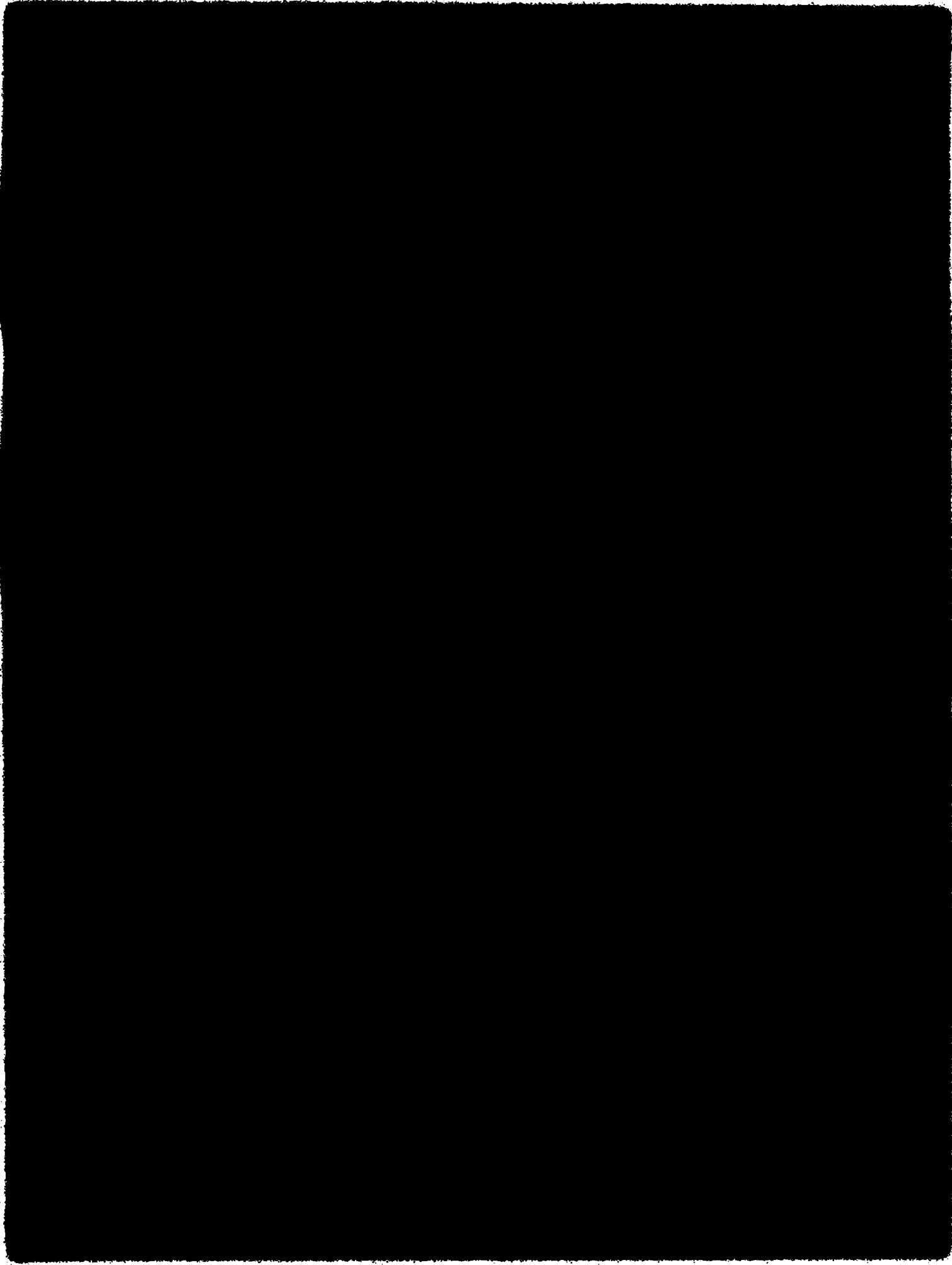




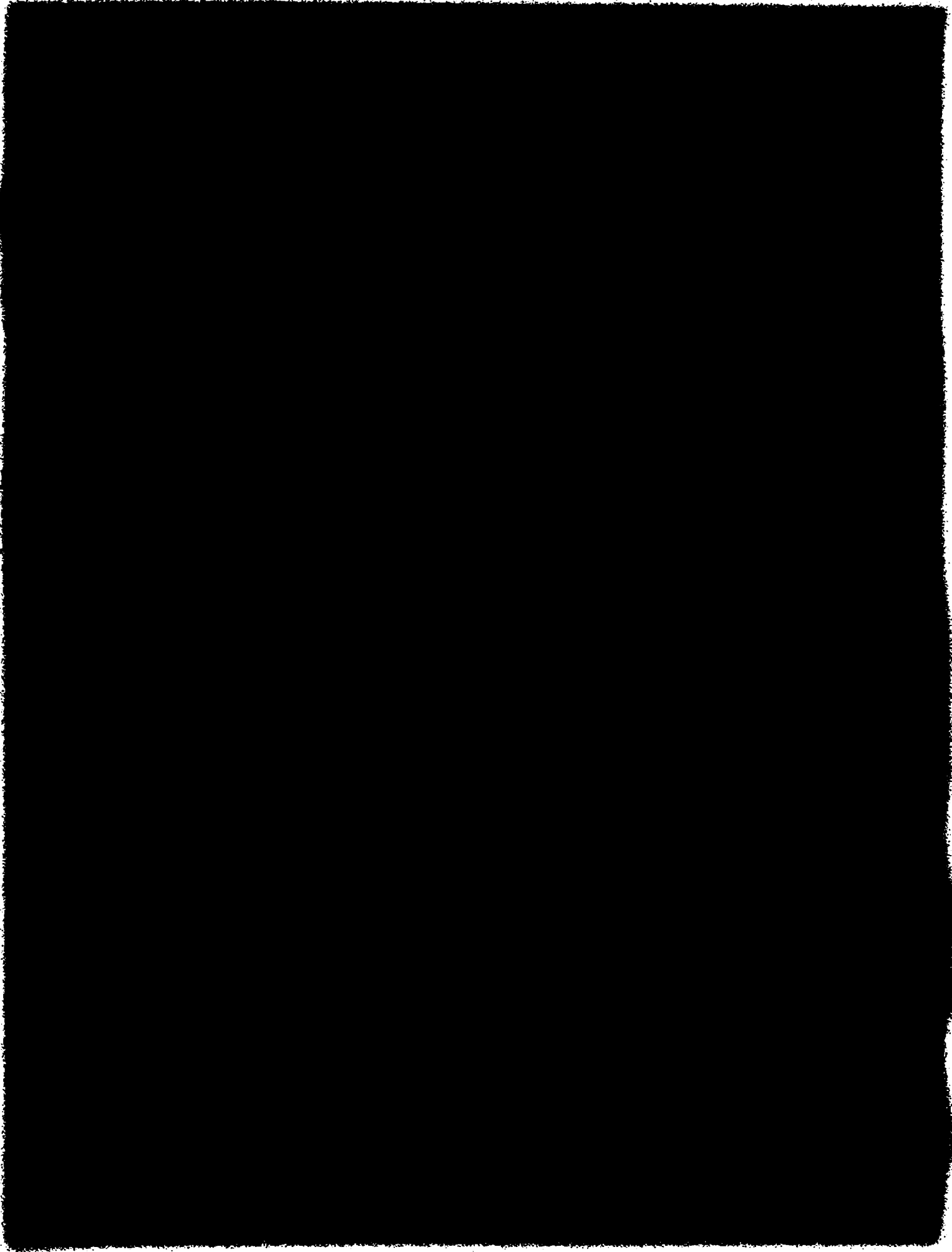


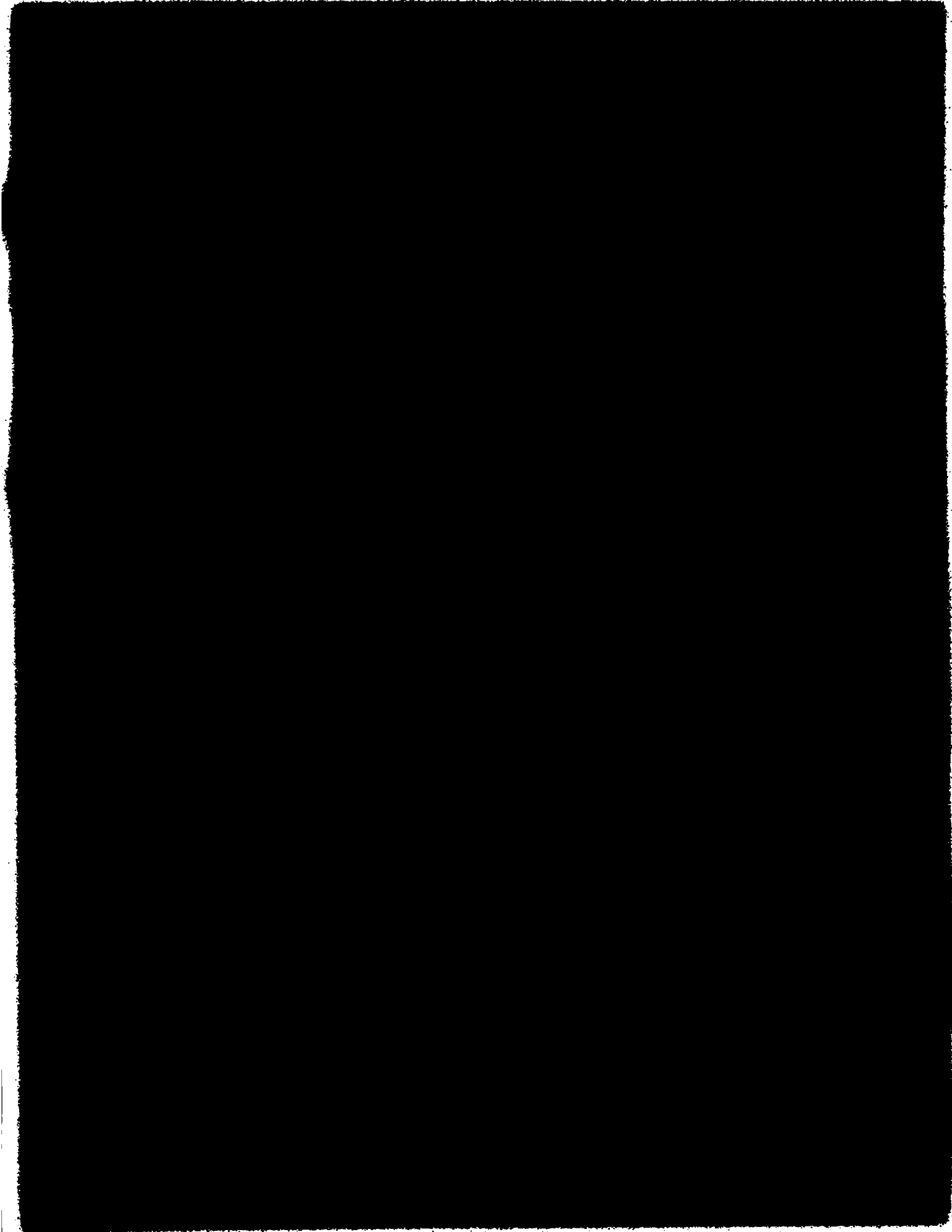
















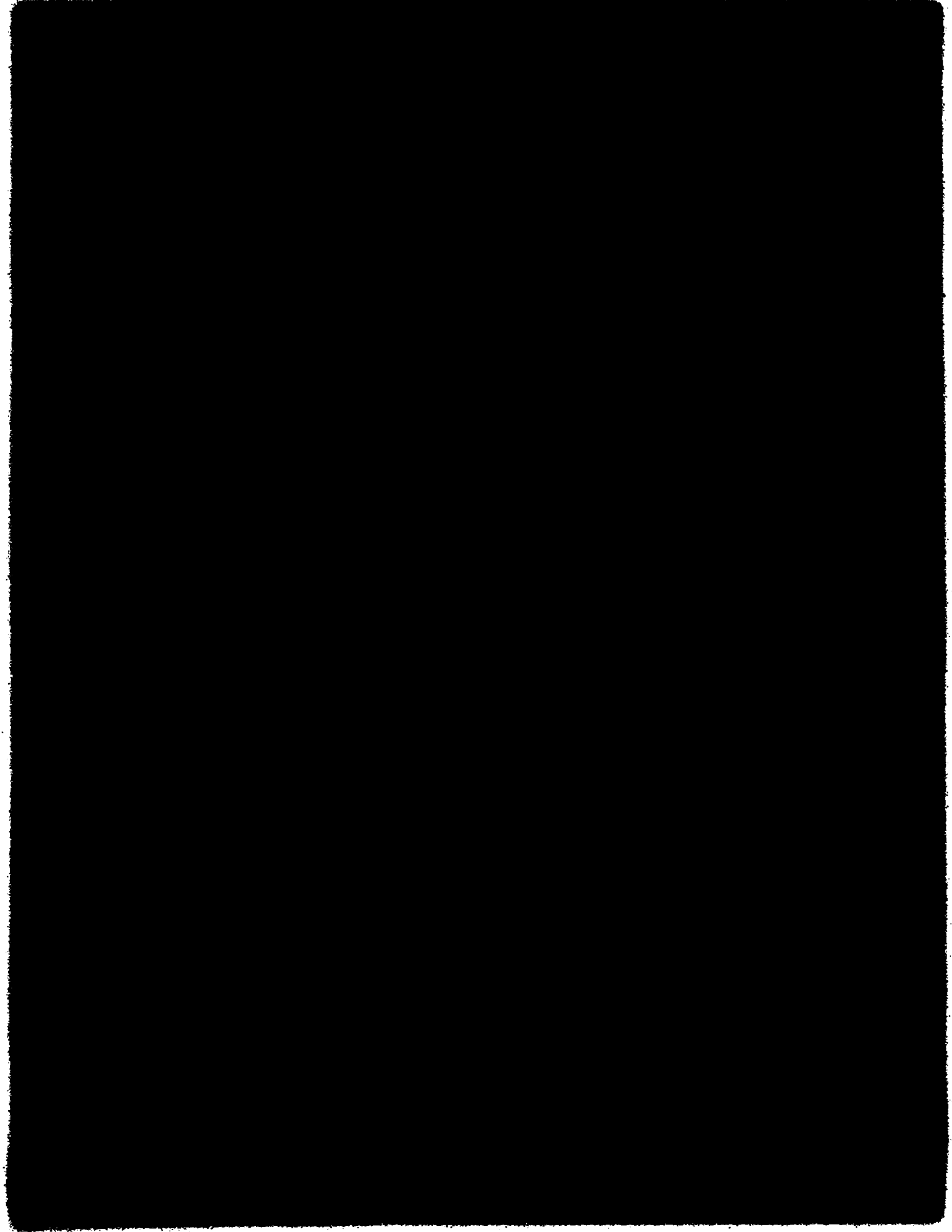
1,3,5,8 tetrametil- 2,4 divinil- 6,7 dimetileno porfina (IX)

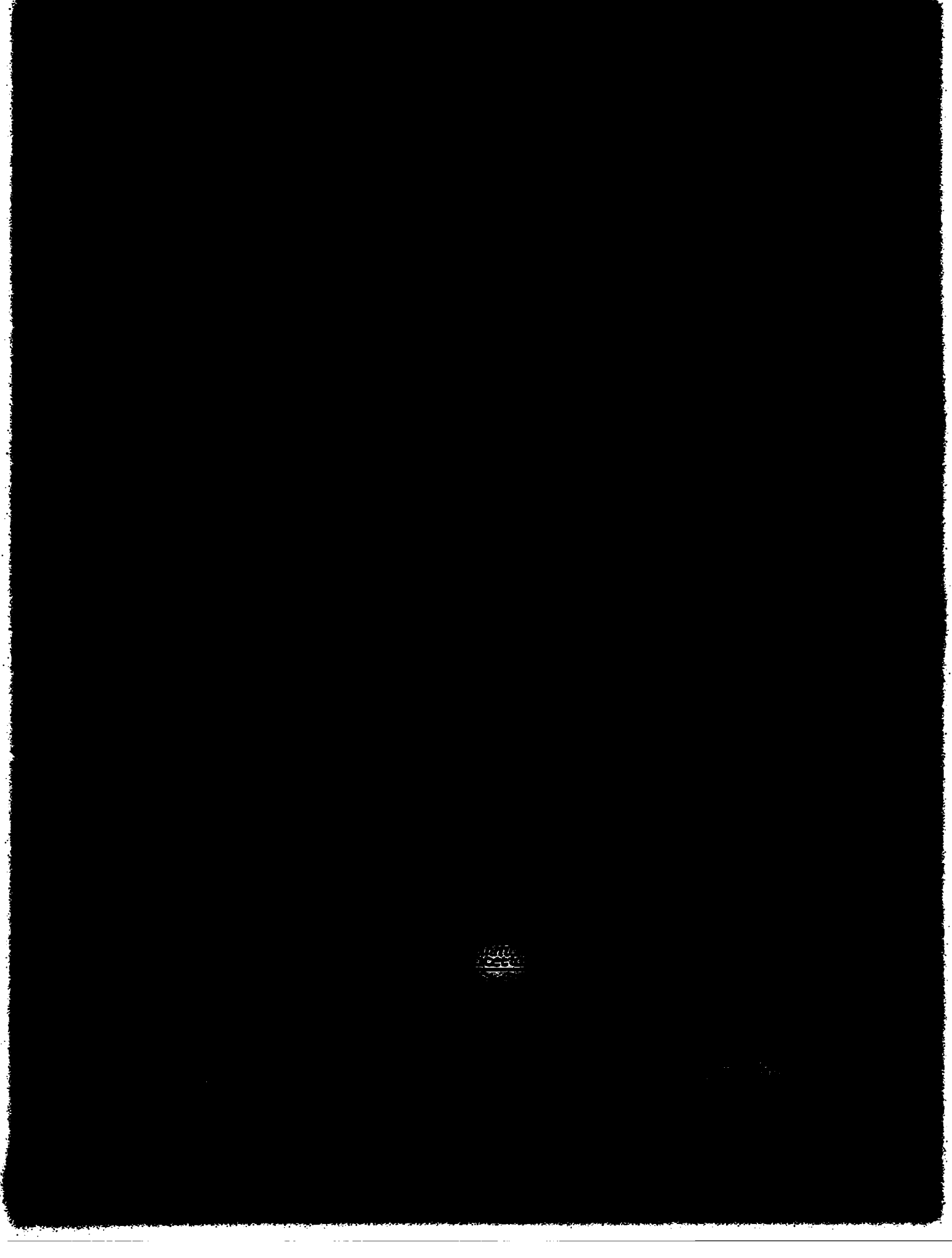
De los 15 isómeros posibles 2 han sido sintetizados por Fischer (20) siendo el IX el más importante por constituir el grupo prostético de la hemoglobina. Esta porfirina fue obtenida por Hoagland (35) en 1916 en el curso de la autólisis estéril de la mioglobina, y por Kammerer (36) en 1924 por la acción de ciertas bacterias sobre la sangre. Fischer y Schneller (37) y Fischer y Lindner (38) la obtuvieron al estado cristalino. En 1929 el mismo Fischer y colaboradores (17) y (18) la sintetizaron a partir de simples pirroles.

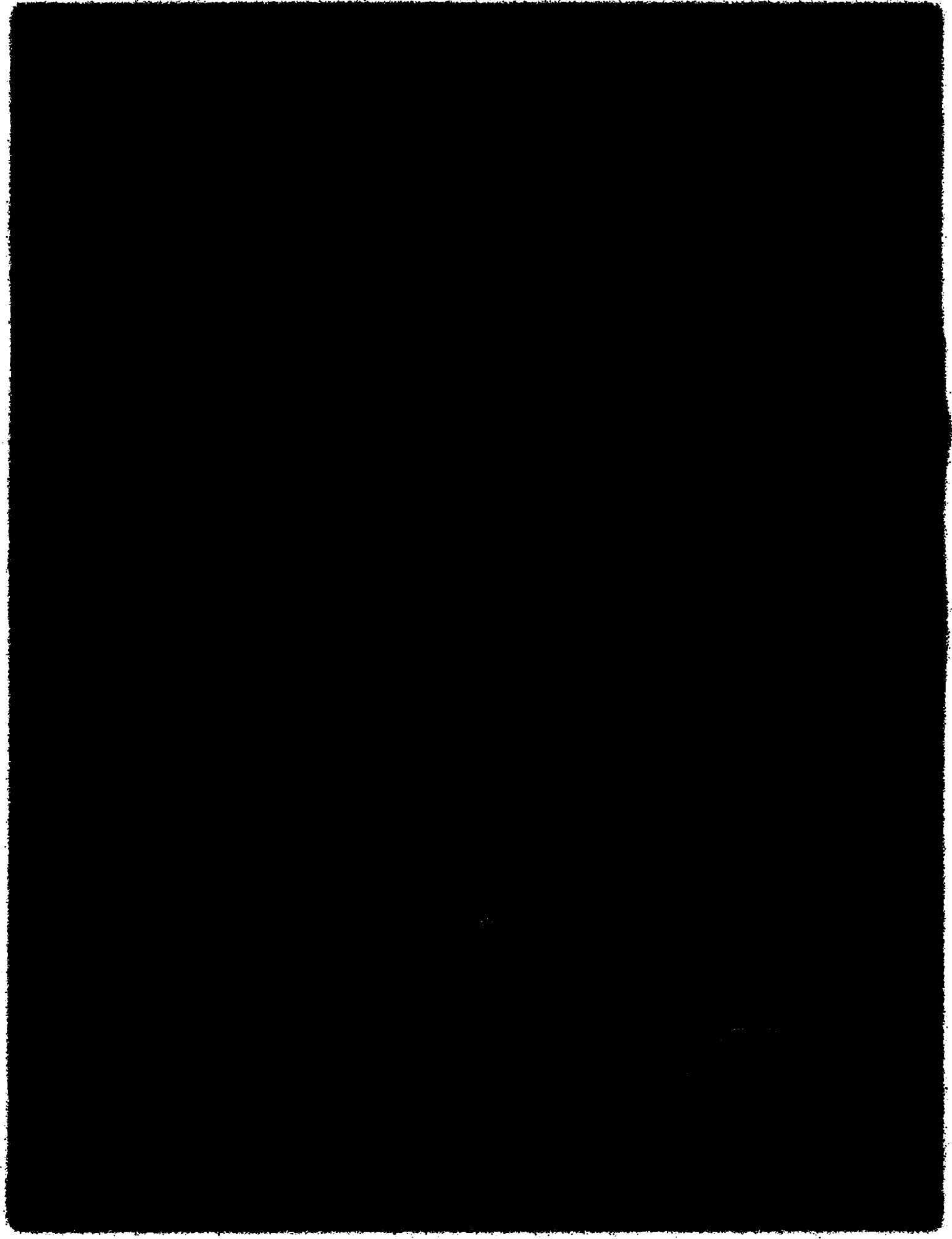
Por la síntesis de un gran número de porfirinas, Fischer demostró satisfactoriamente la estructura del núcleo de la porfina, como también la naturaleza y distribución de las cadenas laterales.

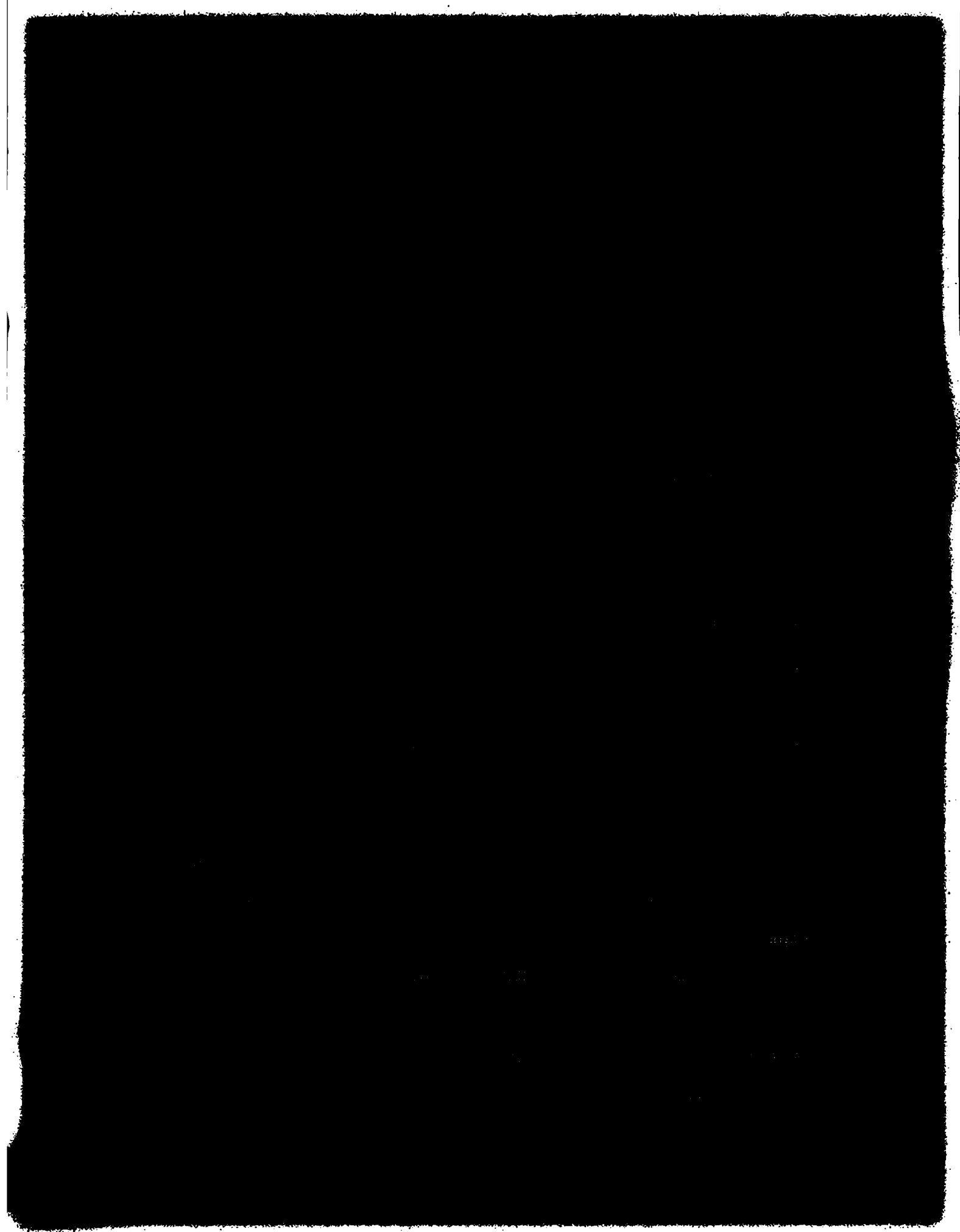
Esas síntesis establecieron la estructura de la proto-, deuterio- y hematoporfirina como así también la de la hemina. Para la síntesis de porfirinas asimétricas se necesitan un pirrometeno sustituido simétrico y un pirrometeno sustituido asimétrico.

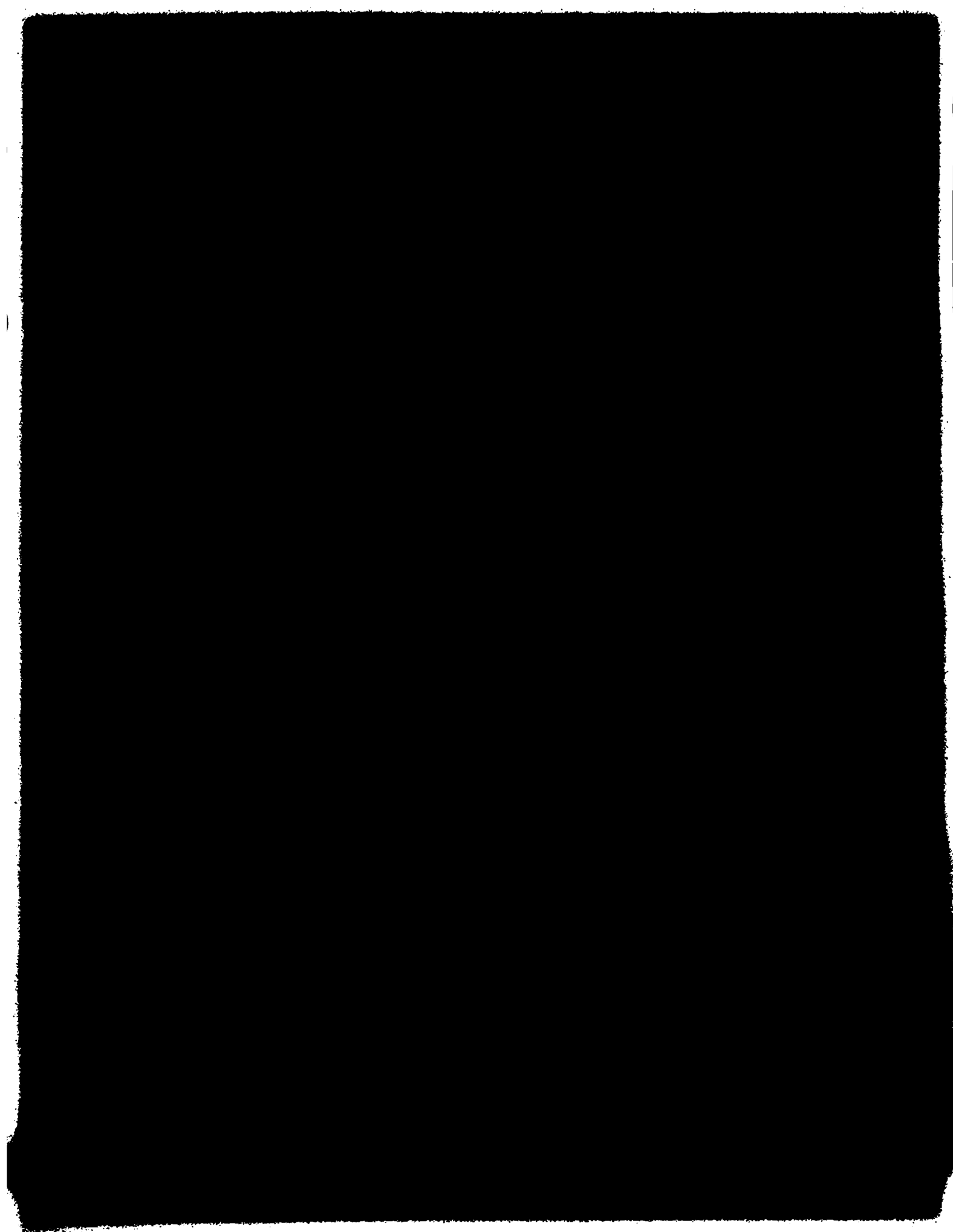
Por condensación de un aldehído pirrólico con un derivado pirrólico en presencia de HBr se obtiene pirrometeno A sustituido asimétrico.











De los 15 isómeros posibles, 2 han sido sintetizados por Fischer. El isómero IX es el único aislado de la naturaleza. La deuteroporfirina IX sintética es idéntica a la aislada por Kammerer (46), Fischer (47) y Watson (48) del intestino, originada por acción bacteriana sobre la hemoglobina.

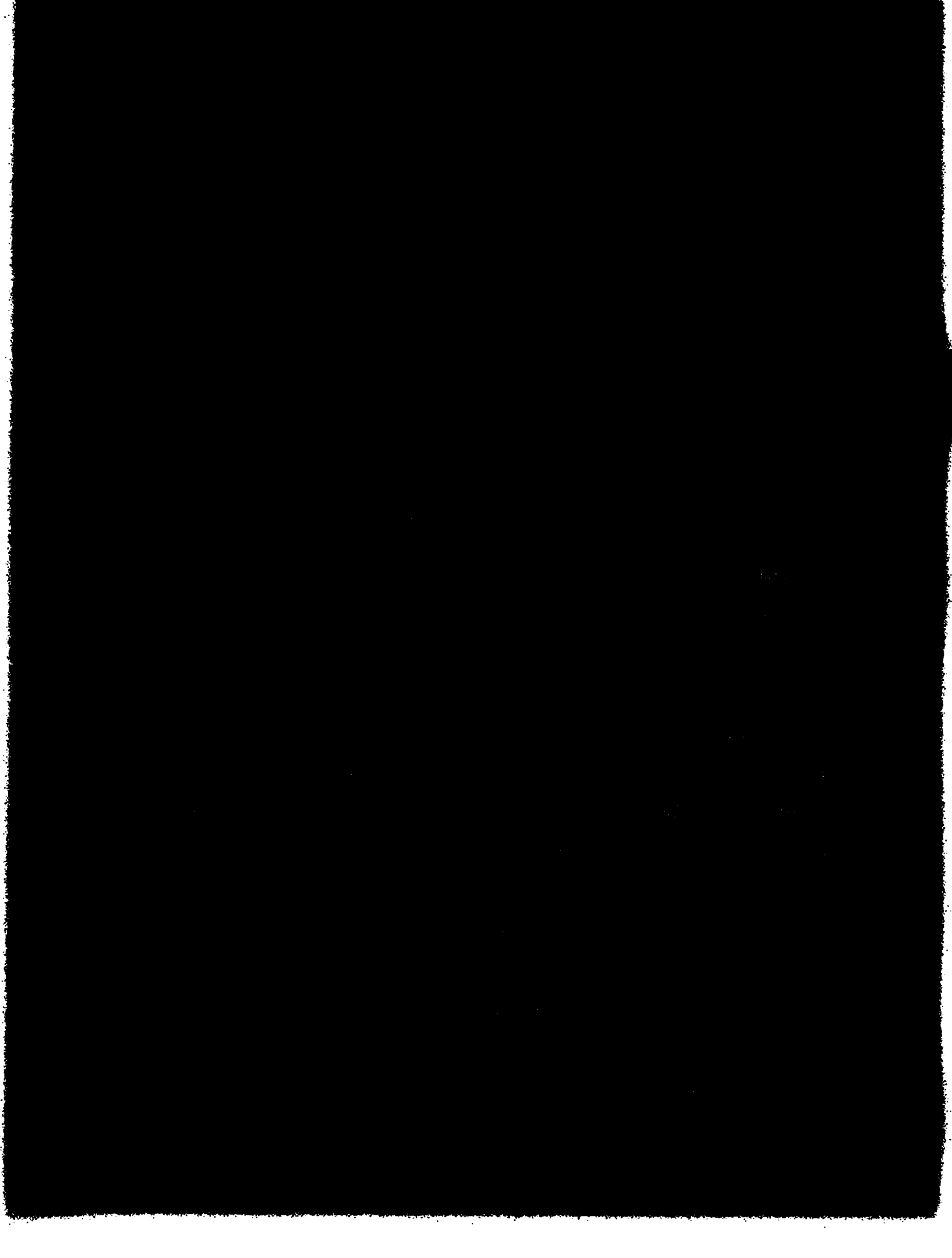
Schumm (49) observó por primera vez deuteroporfirina IX en heces después de una hemorragia gastrointestinal o luego de una dieta conteniendo sangre. Este autor la llamó copratoporfirina para diferenciarla de la coproporfirina, pero el nombre de deuteroporfirina asignado por Fischer fué luego aceptado universalmente.

La deuteroporfirina IX también se encuentra en la carne en putrefacción y en la sangre luego de prolongada putrefacción alcalina (50). Schwartz (51) encontró cantidades variables de esta porfirina en heces de conejos intoxicados con plomo.

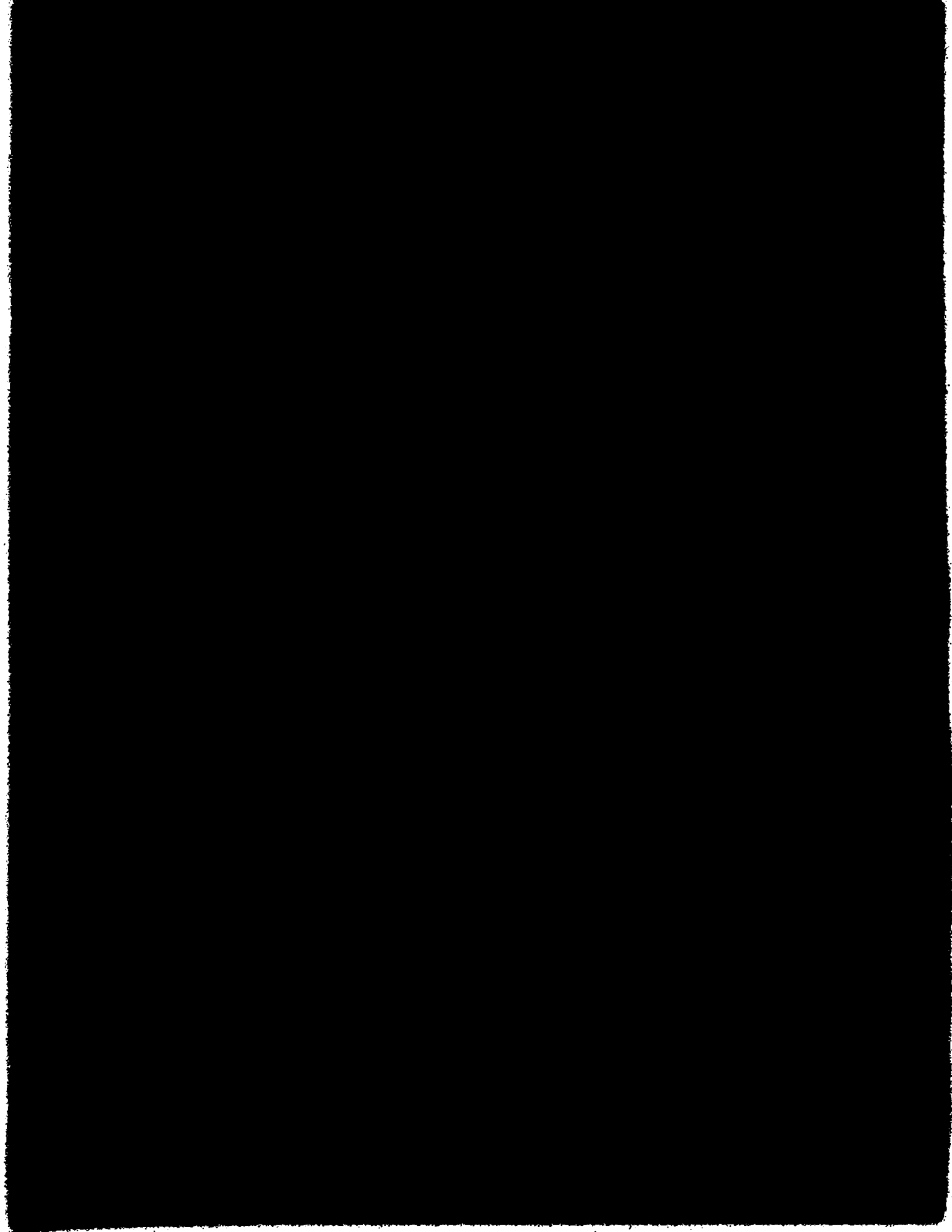
La deuteroporfirina IX a diferencia de las coproporfirinas, es extraída por cloroformo de sus soluciones en ClH 0,2%. Forma una sal de sodio insoluble y el P.F. de su dietil éster es 224°.

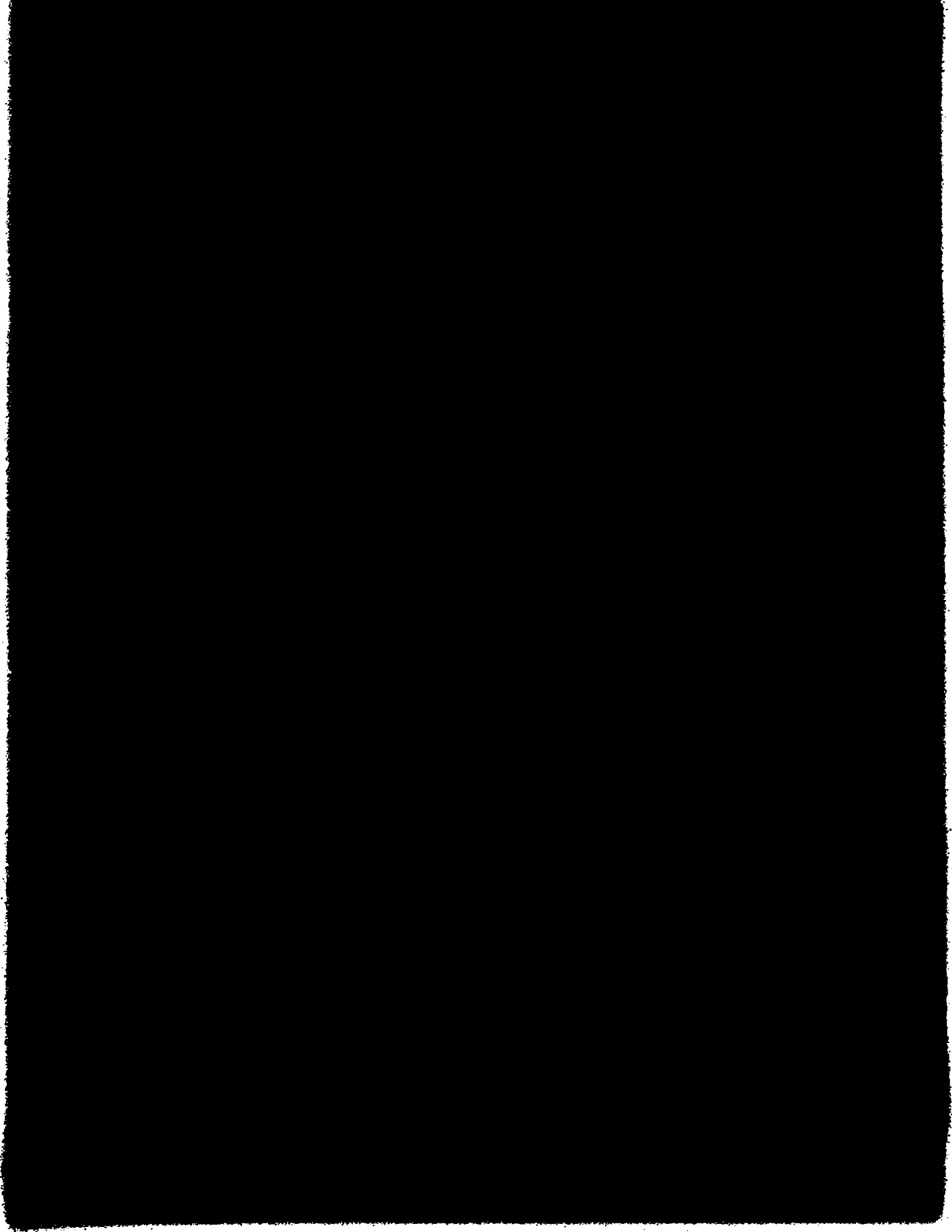
HEMATOPORFIRINAS:  $C_{20} H_6 N_4 (CH_3)_4 (CHOH-CH_3)_2 (CH_2-CH_2-COOH)_2$   
1,3,5,8 metil- 2,4 hidroxietil- 6,7 propiónica porfina (IX)

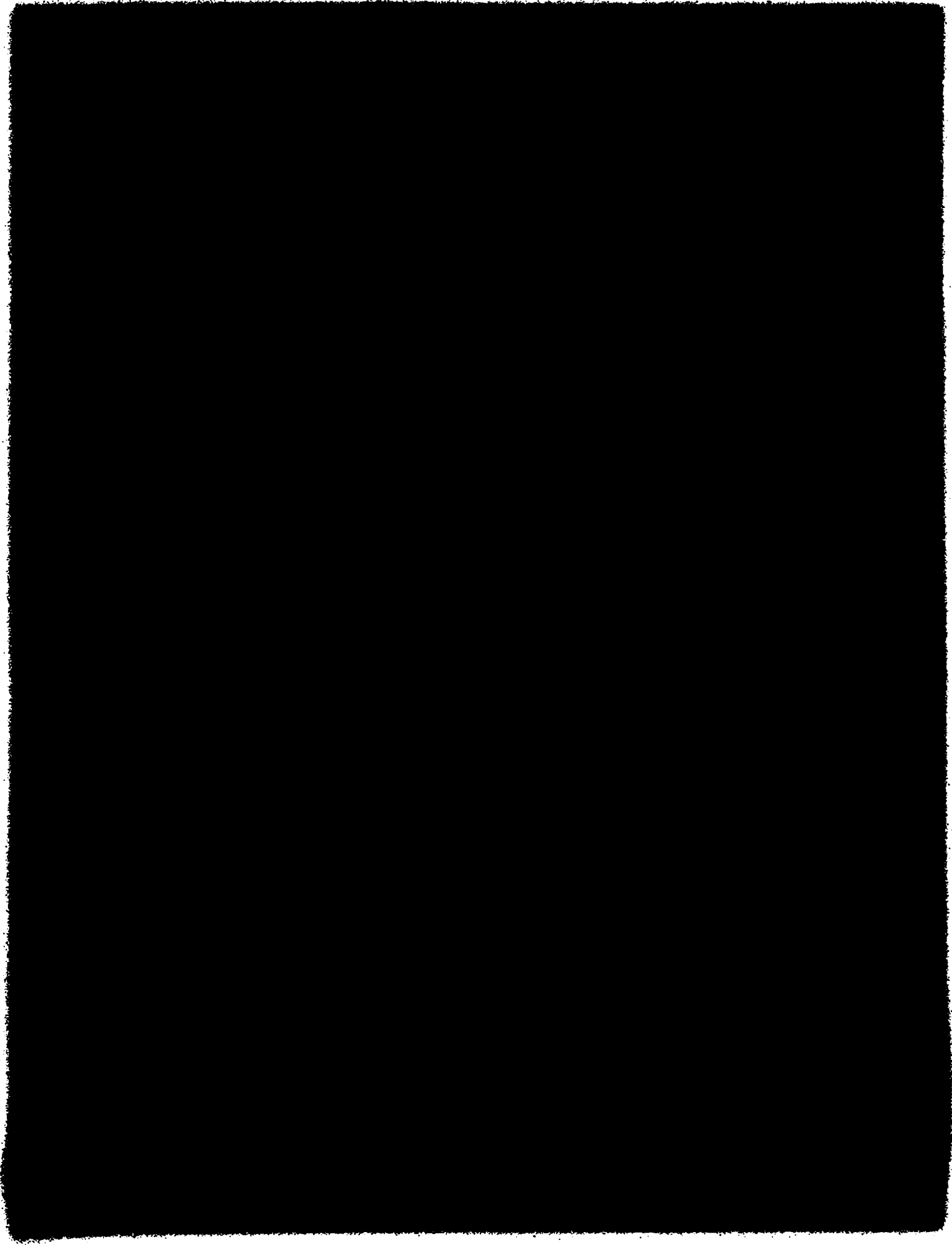


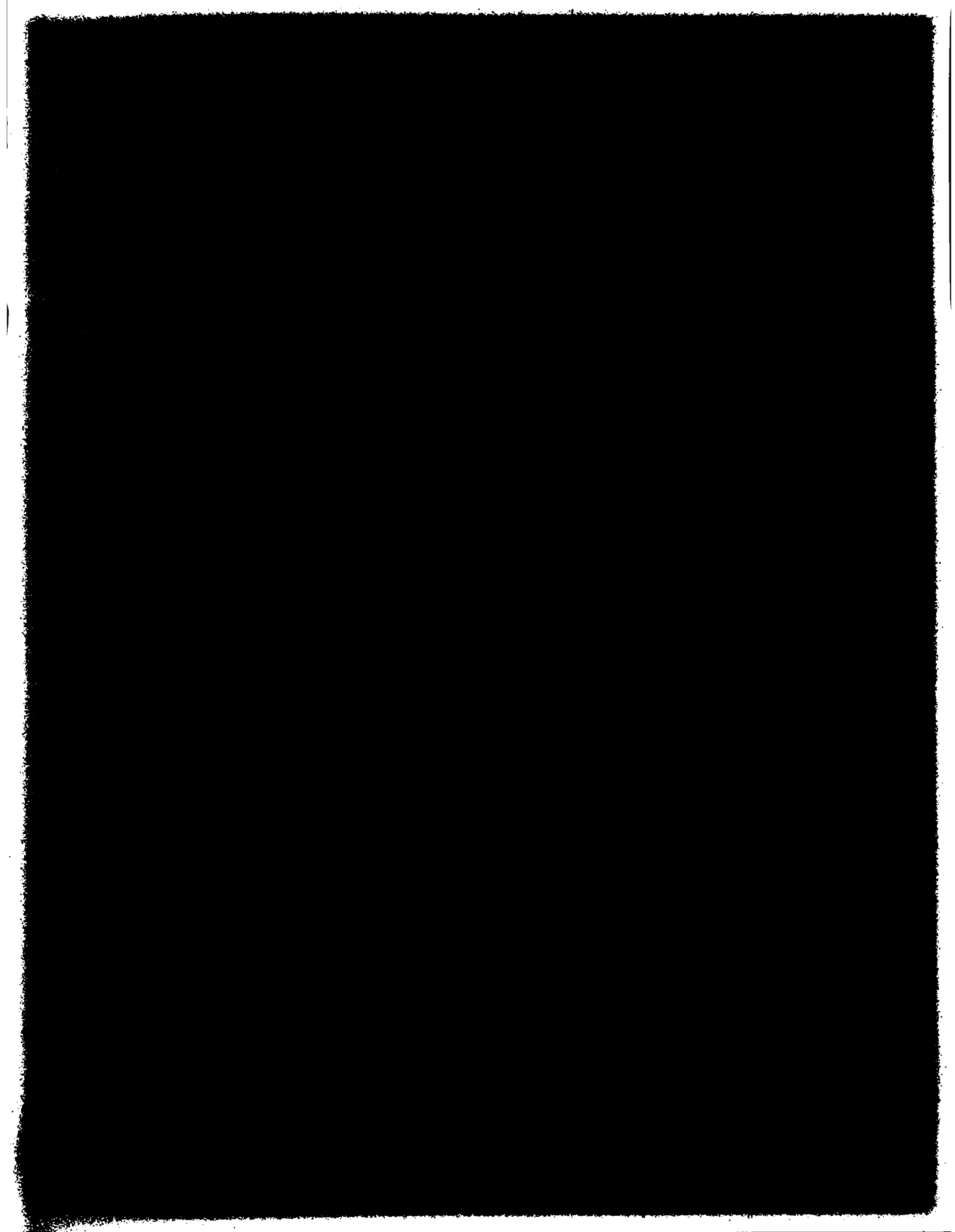


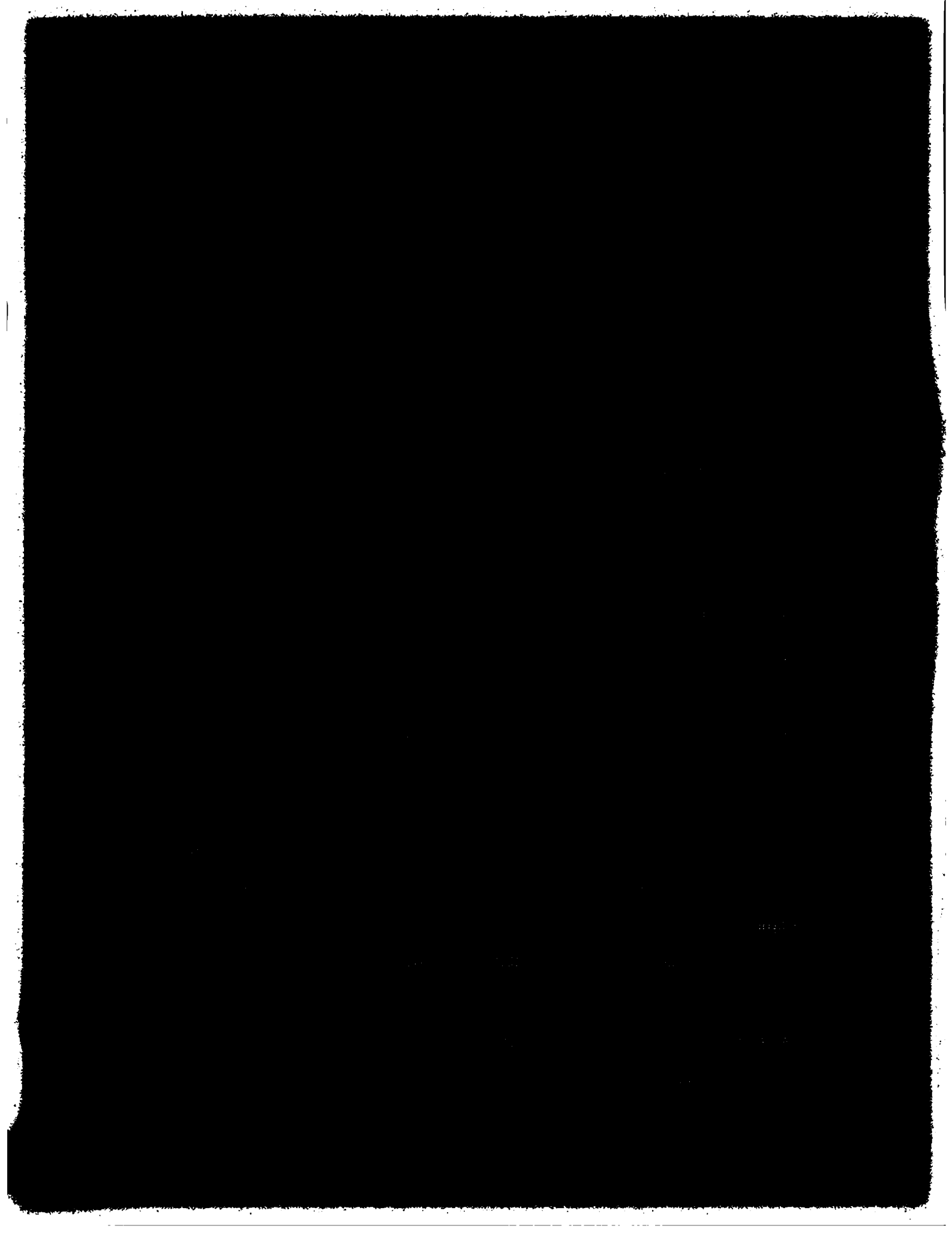
1998

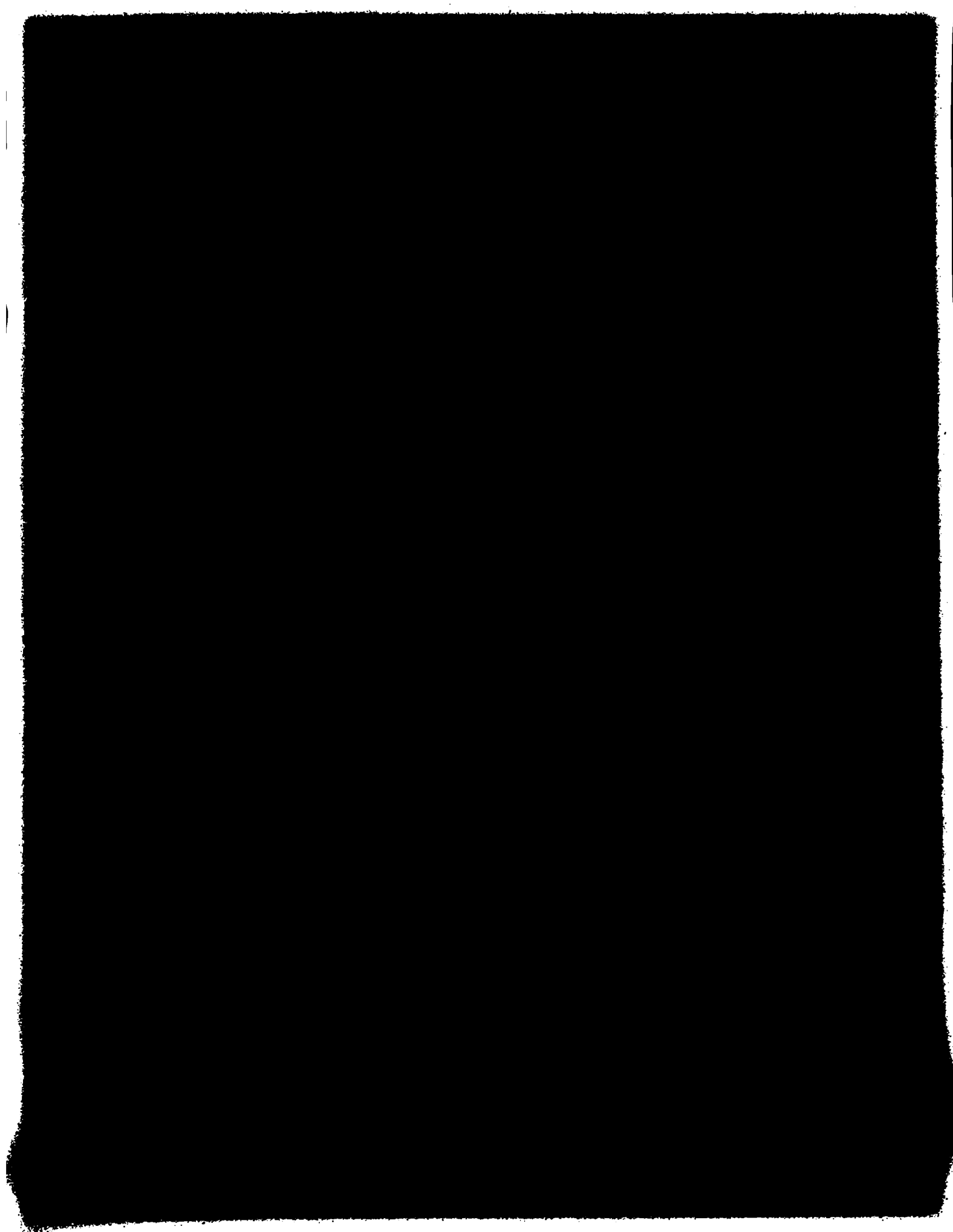




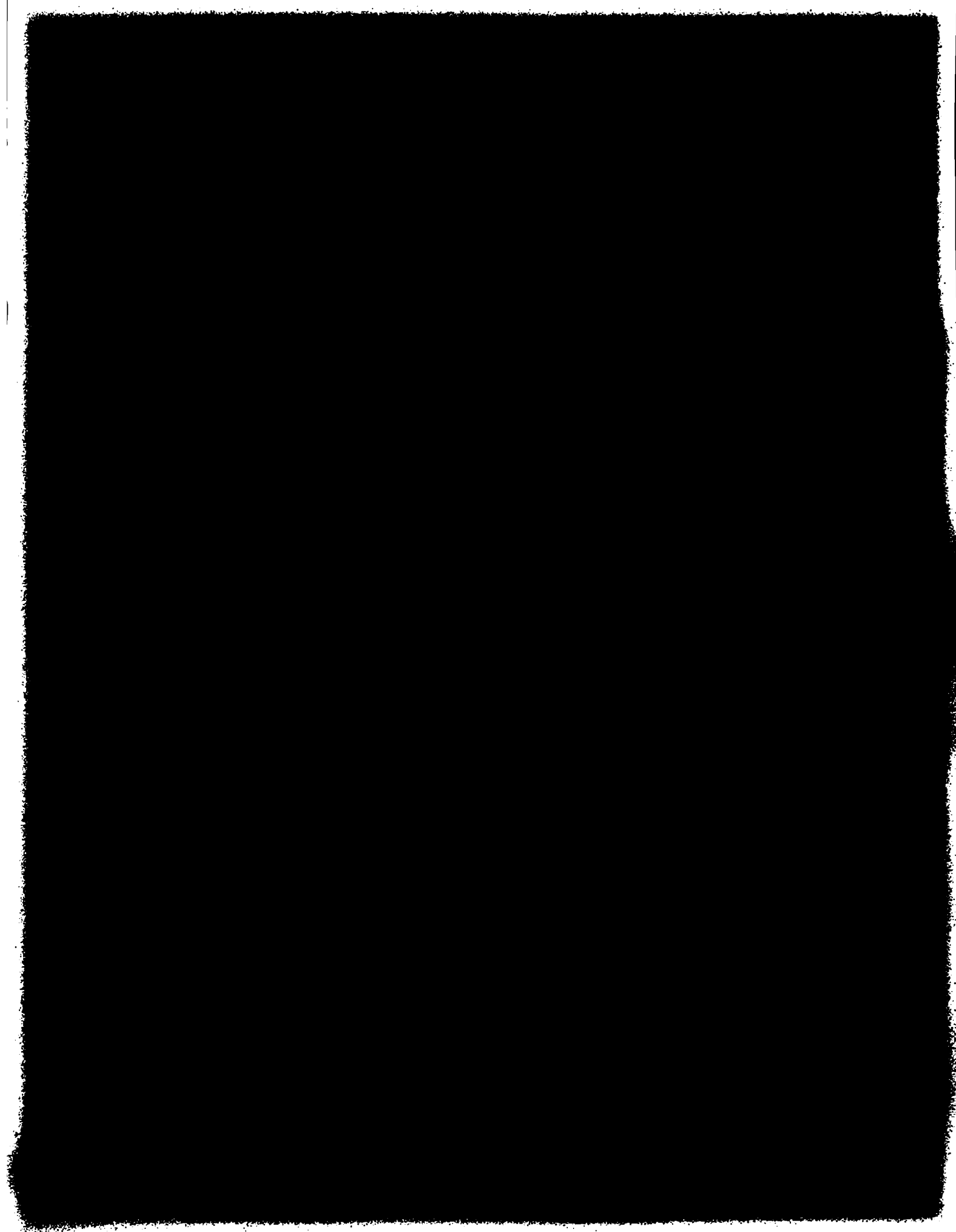












1911

1912

1913

1914

1915

1916

1917

1918

1919

1920

1921

1922

1923

1924

1925

1926

1927

1928

1929

1930

[The rest of the page is extremely dark and illegible.]

quiere  
darse  
por  
cia  
te  
his

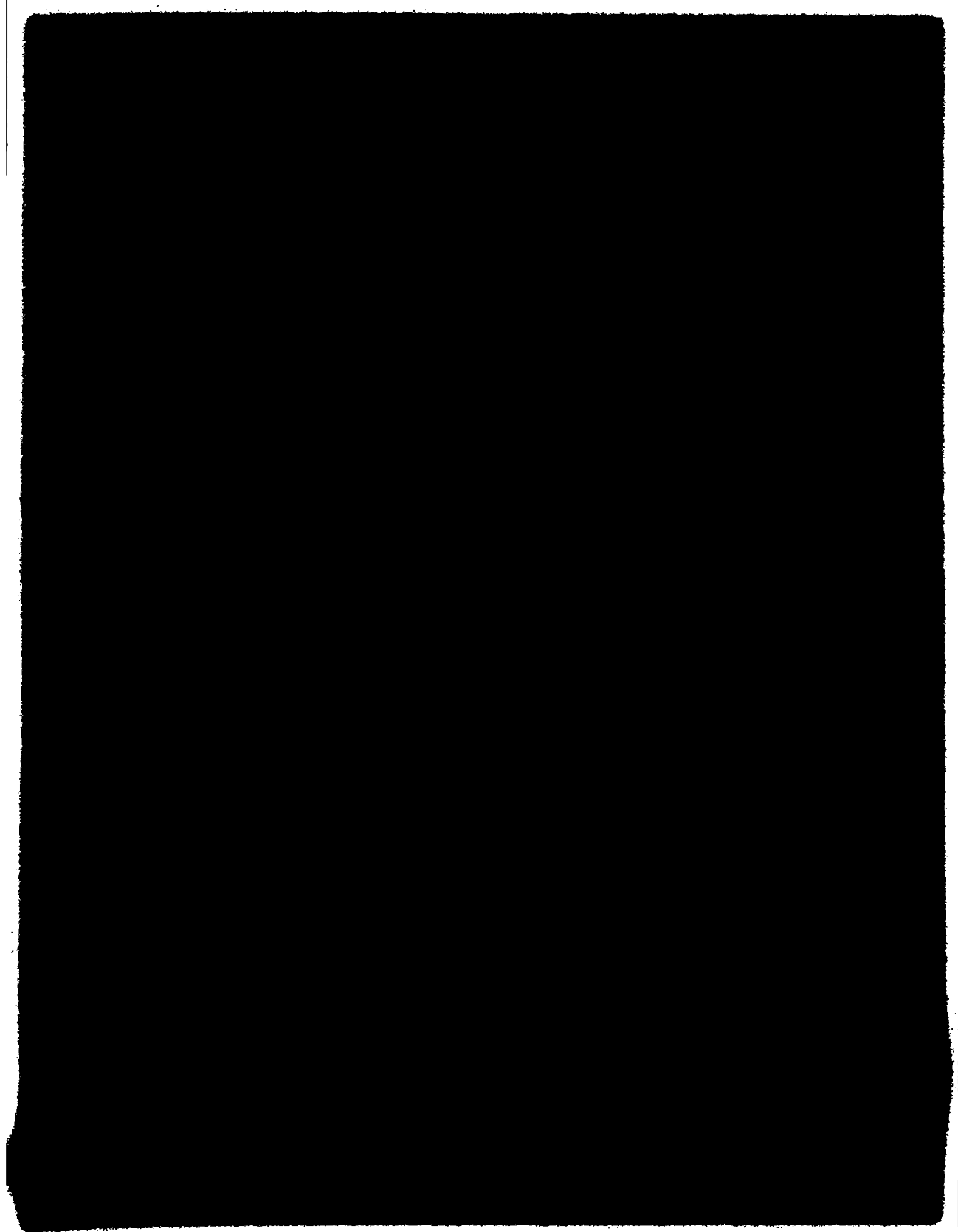
cia  
el  
aún  
ring  
per

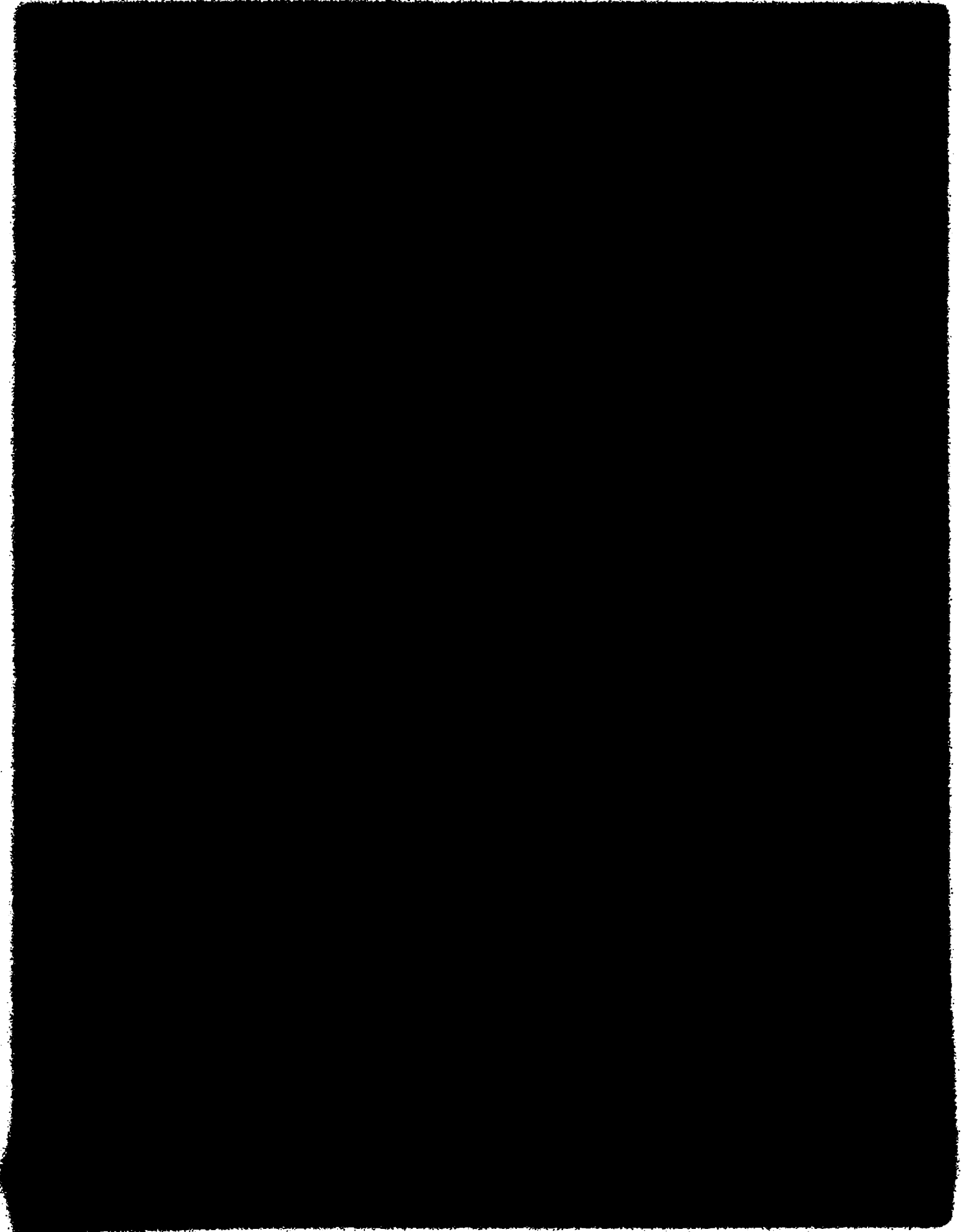
lepti  
fiere  
entre  
lecto

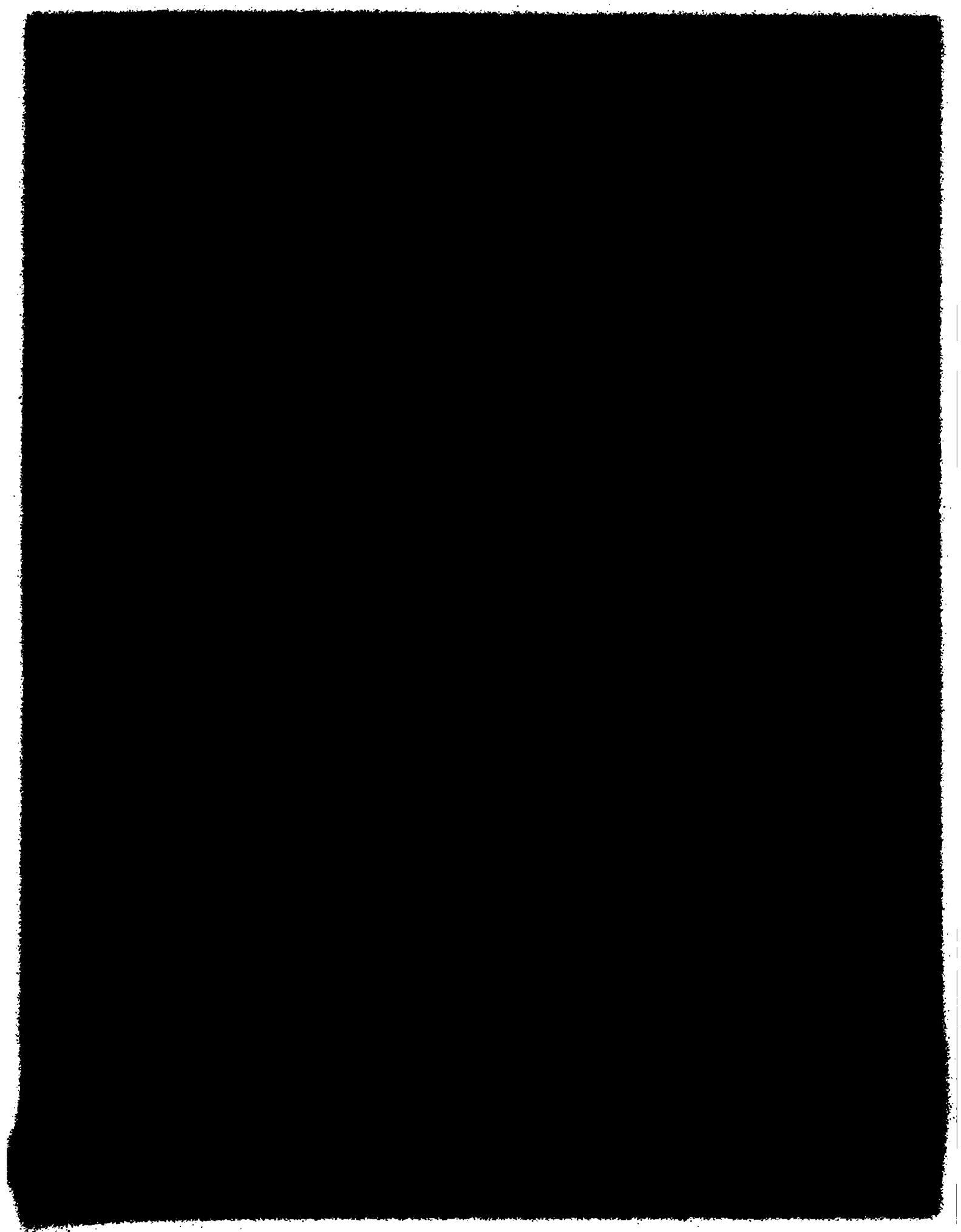
tra  
cia  
nos

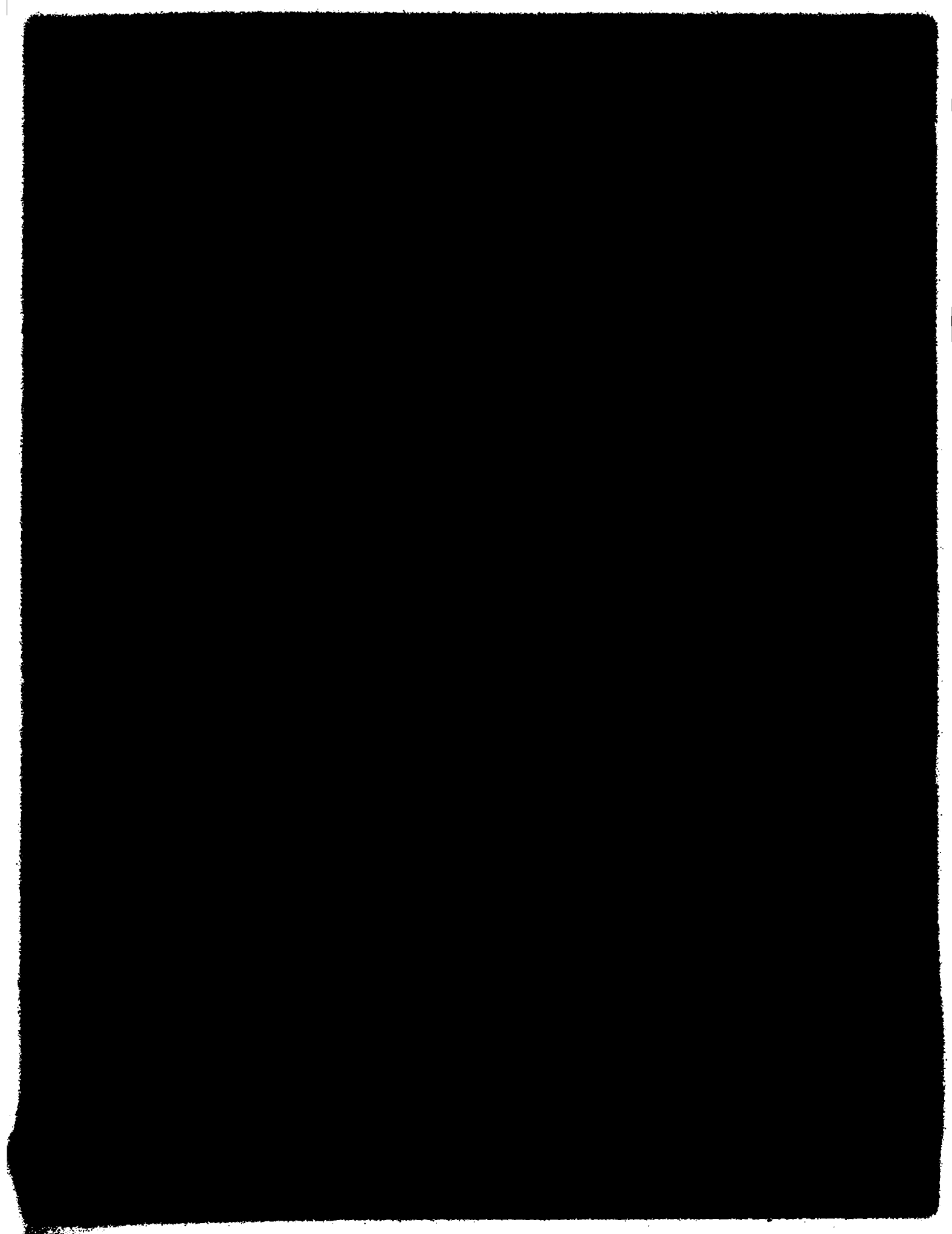
ESPECTROSCOPIA

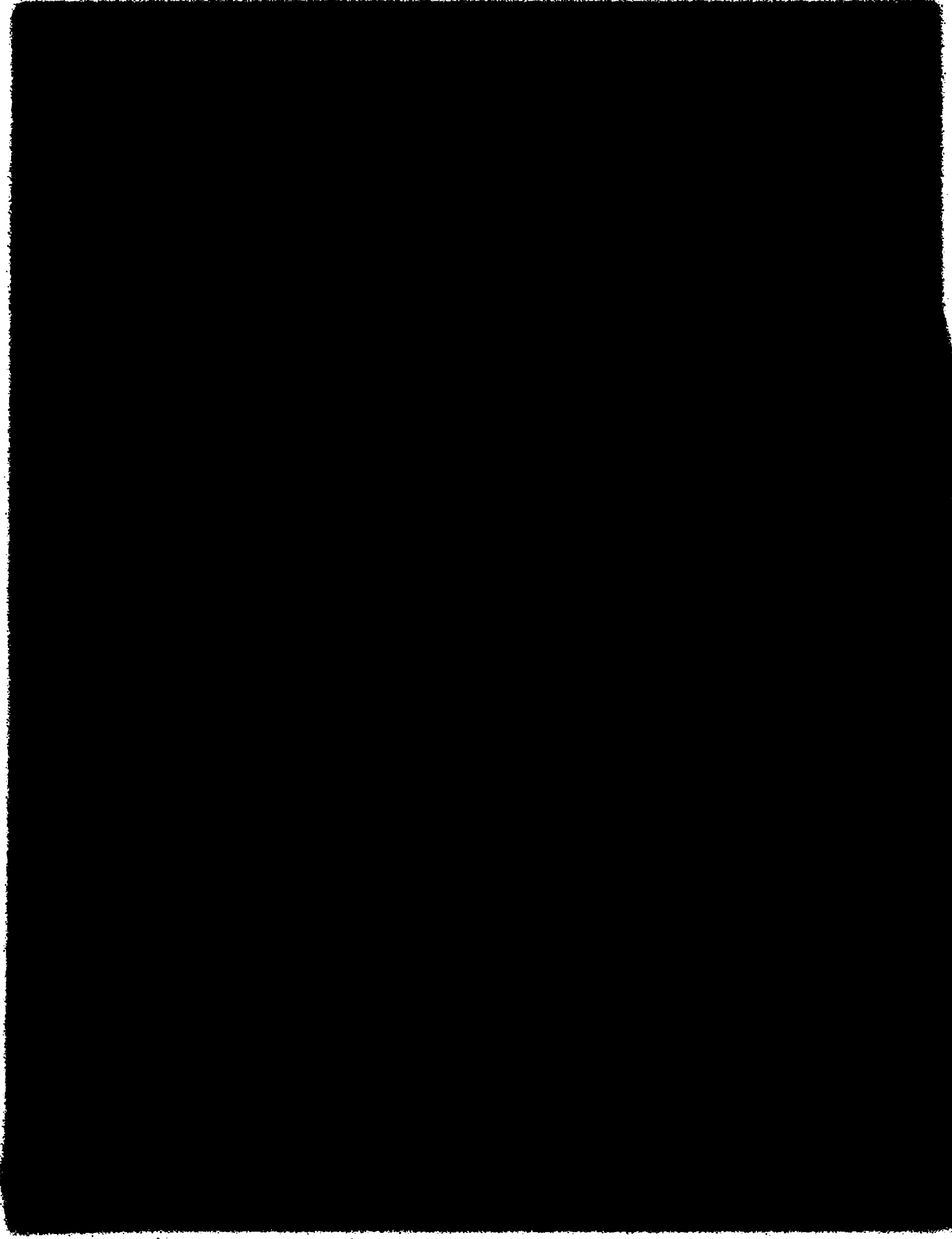
fir  
men



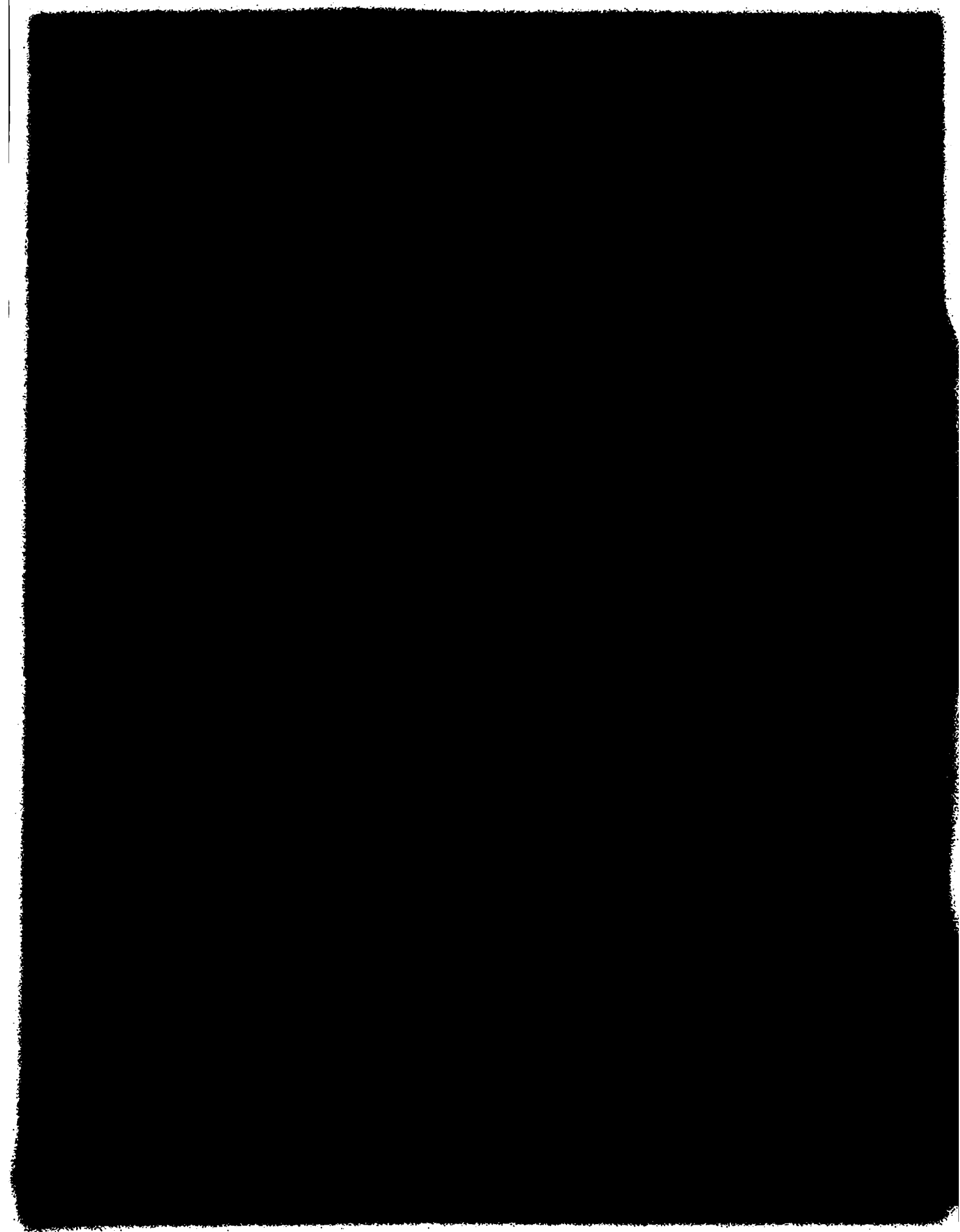


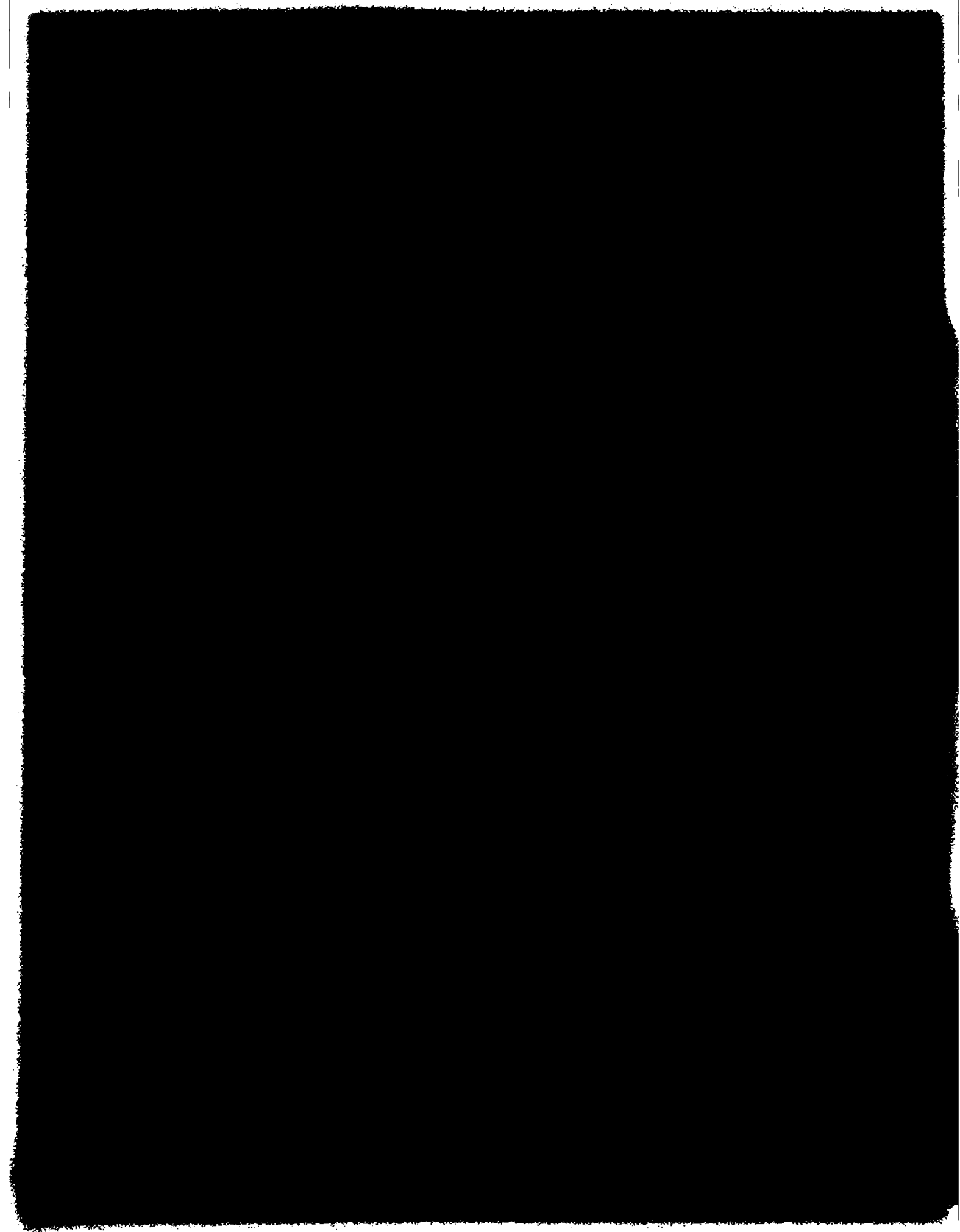


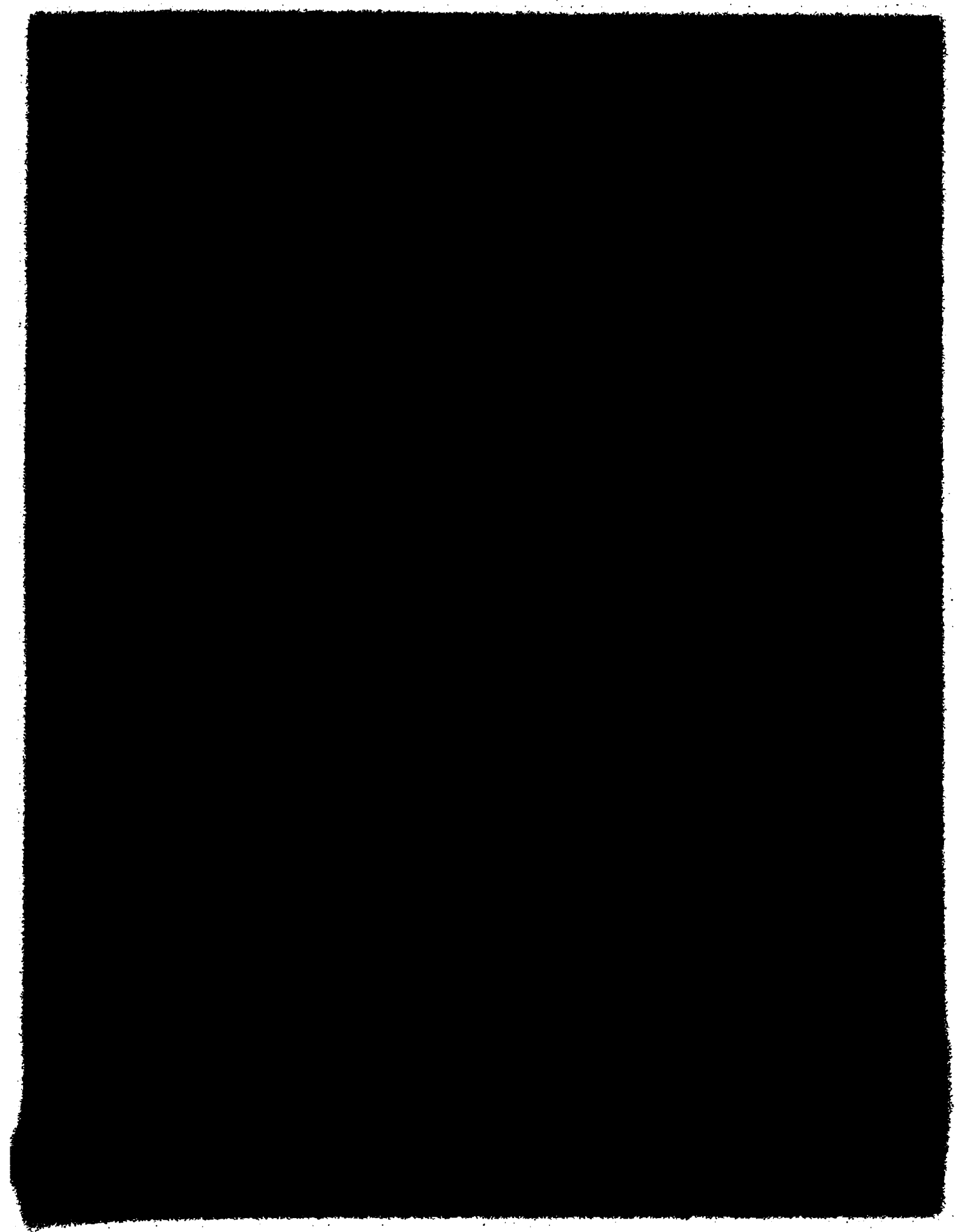


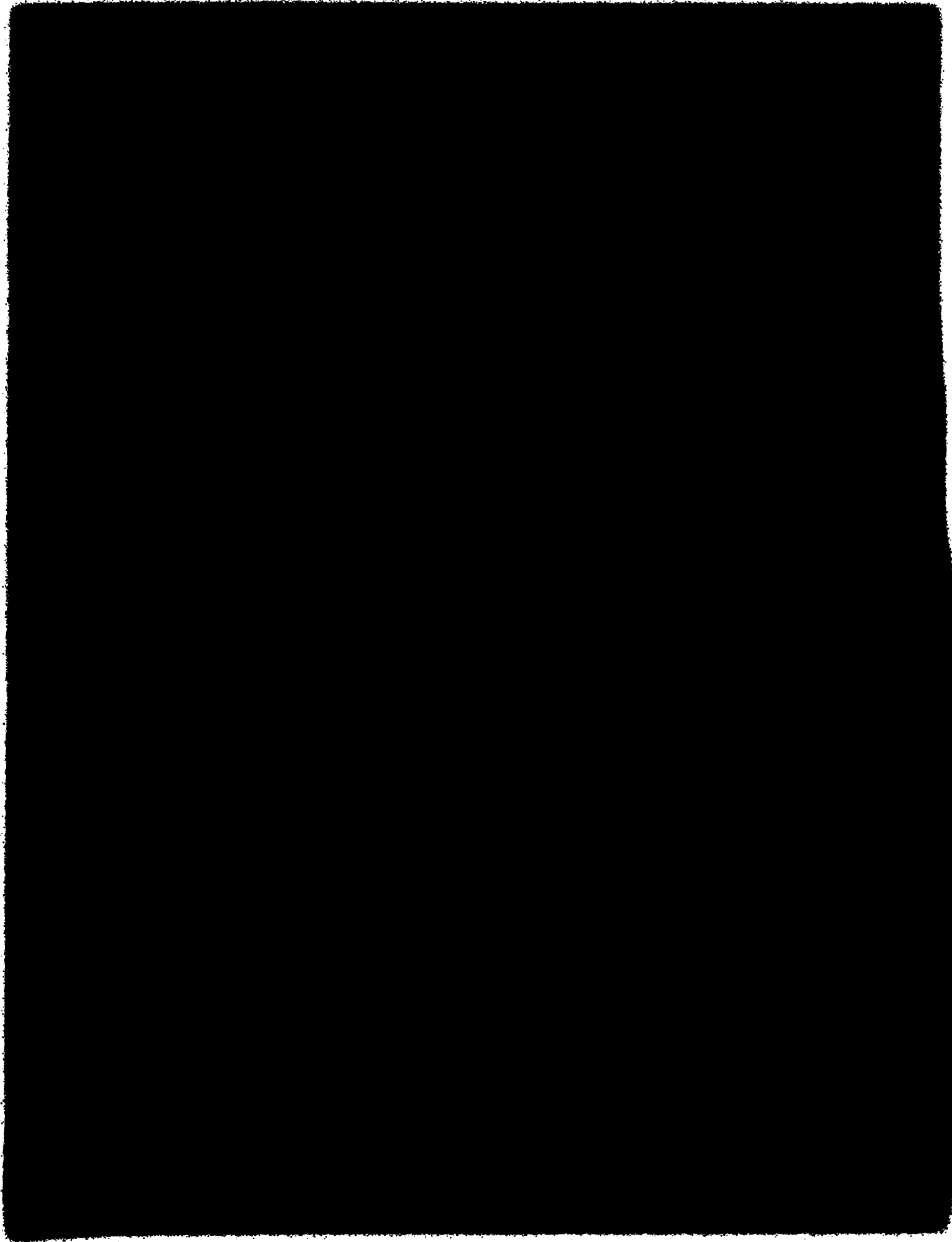


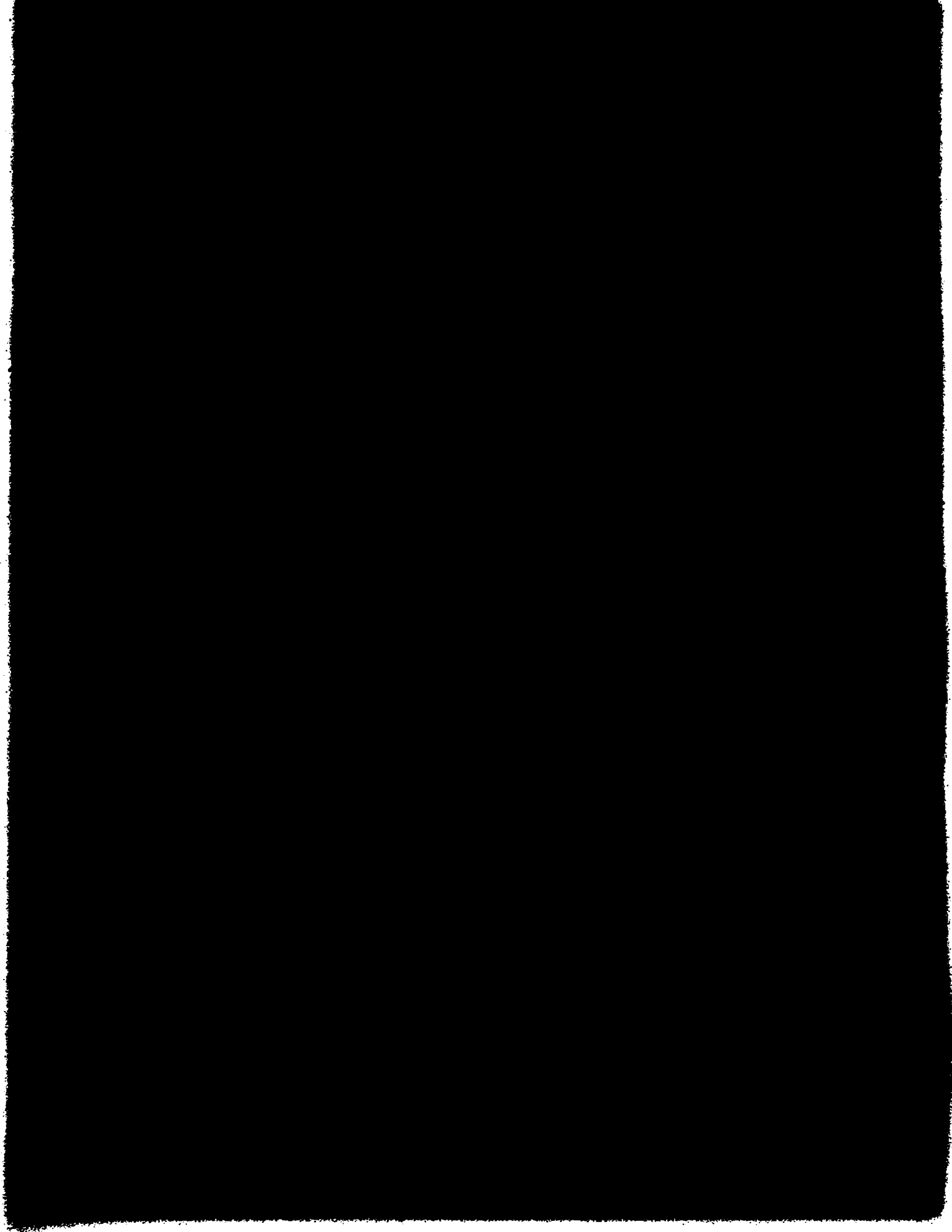




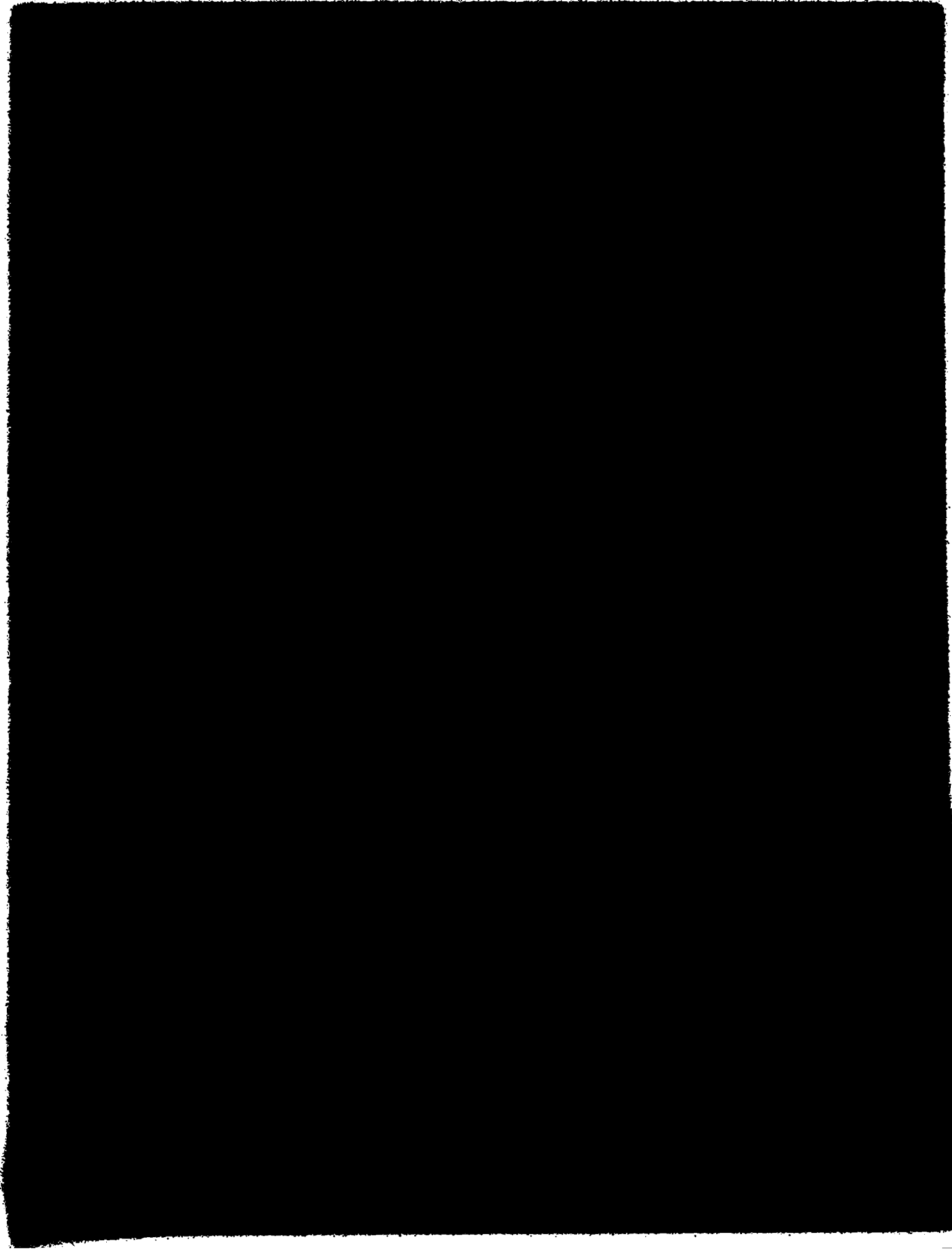


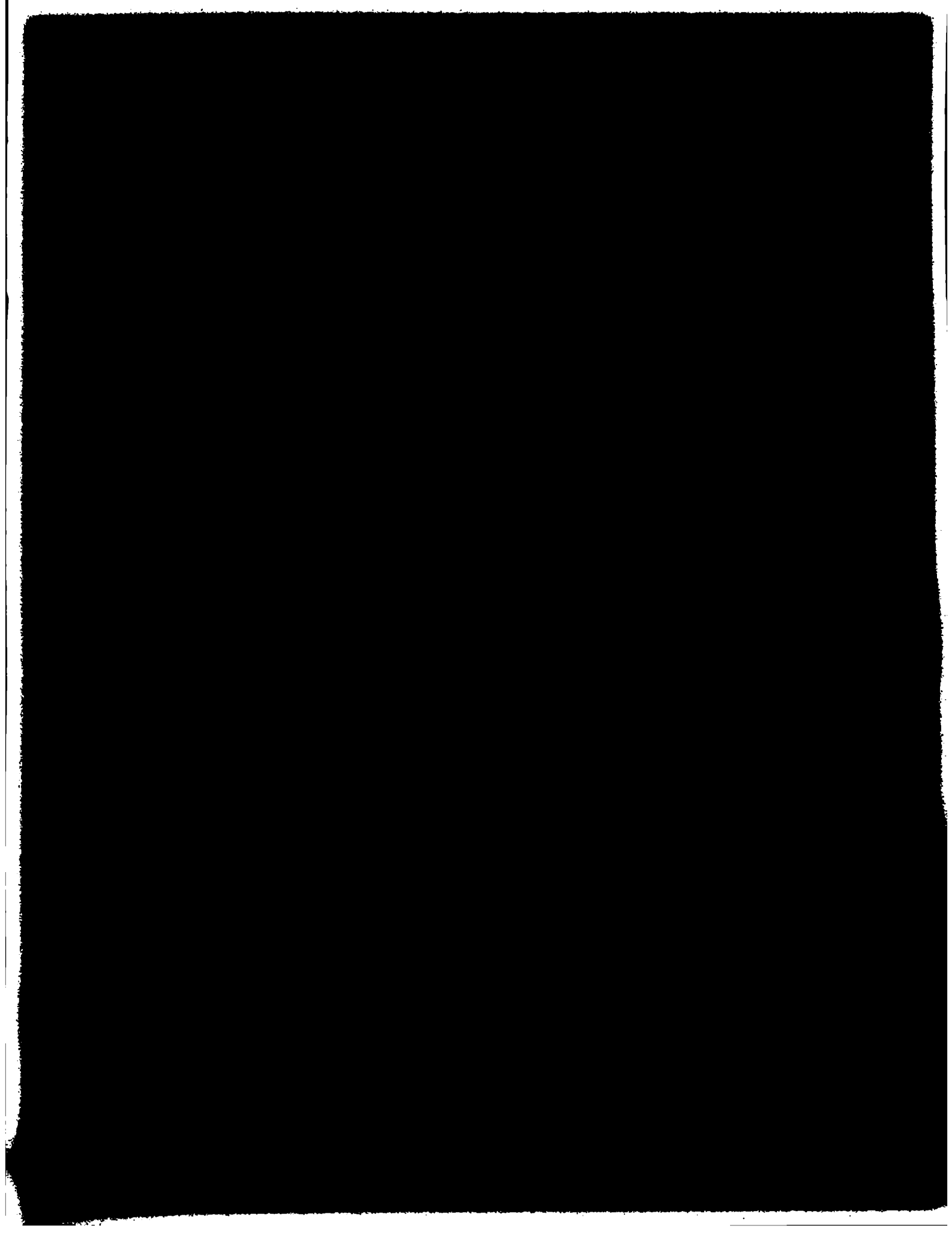














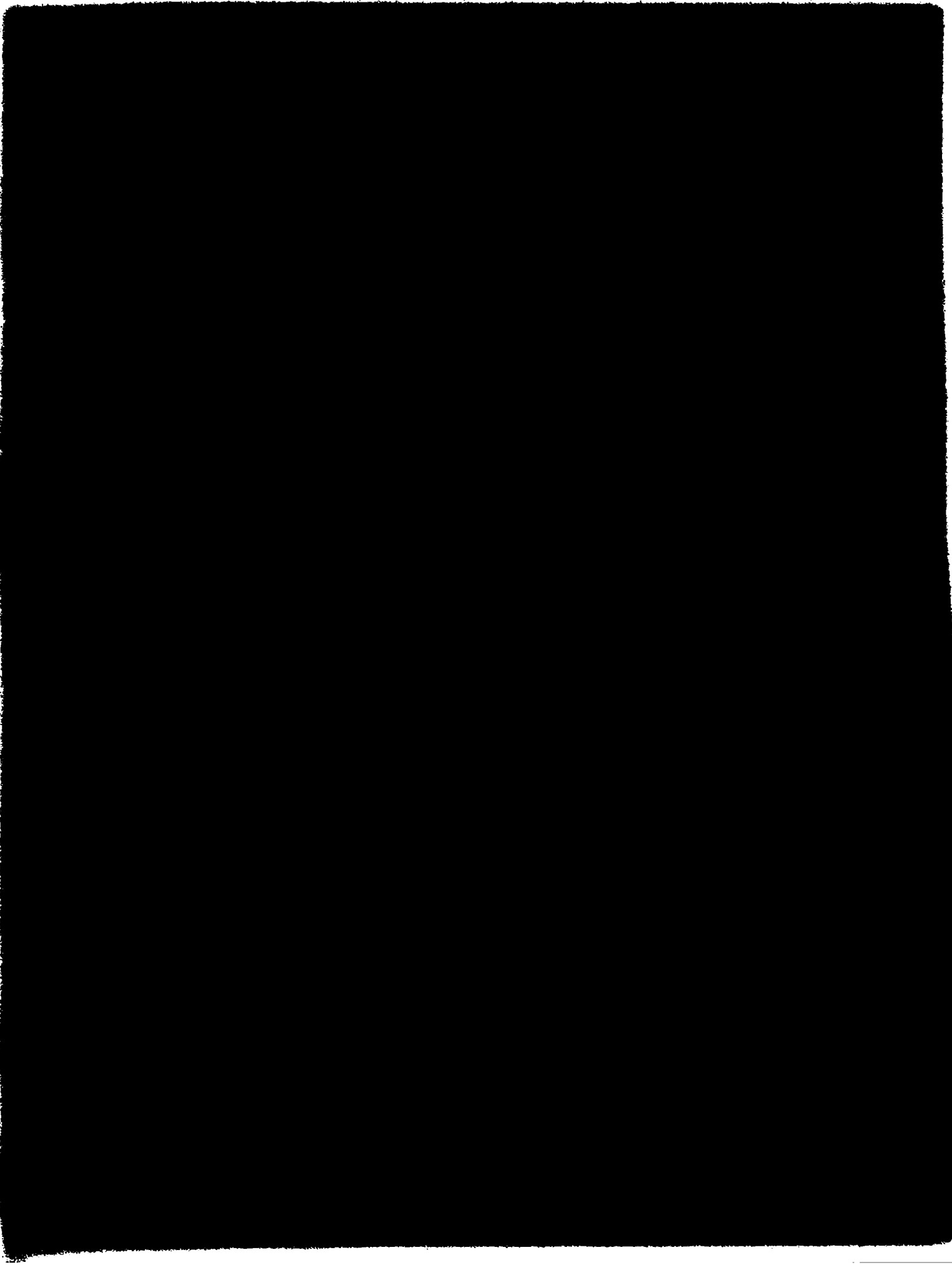
## Abstract

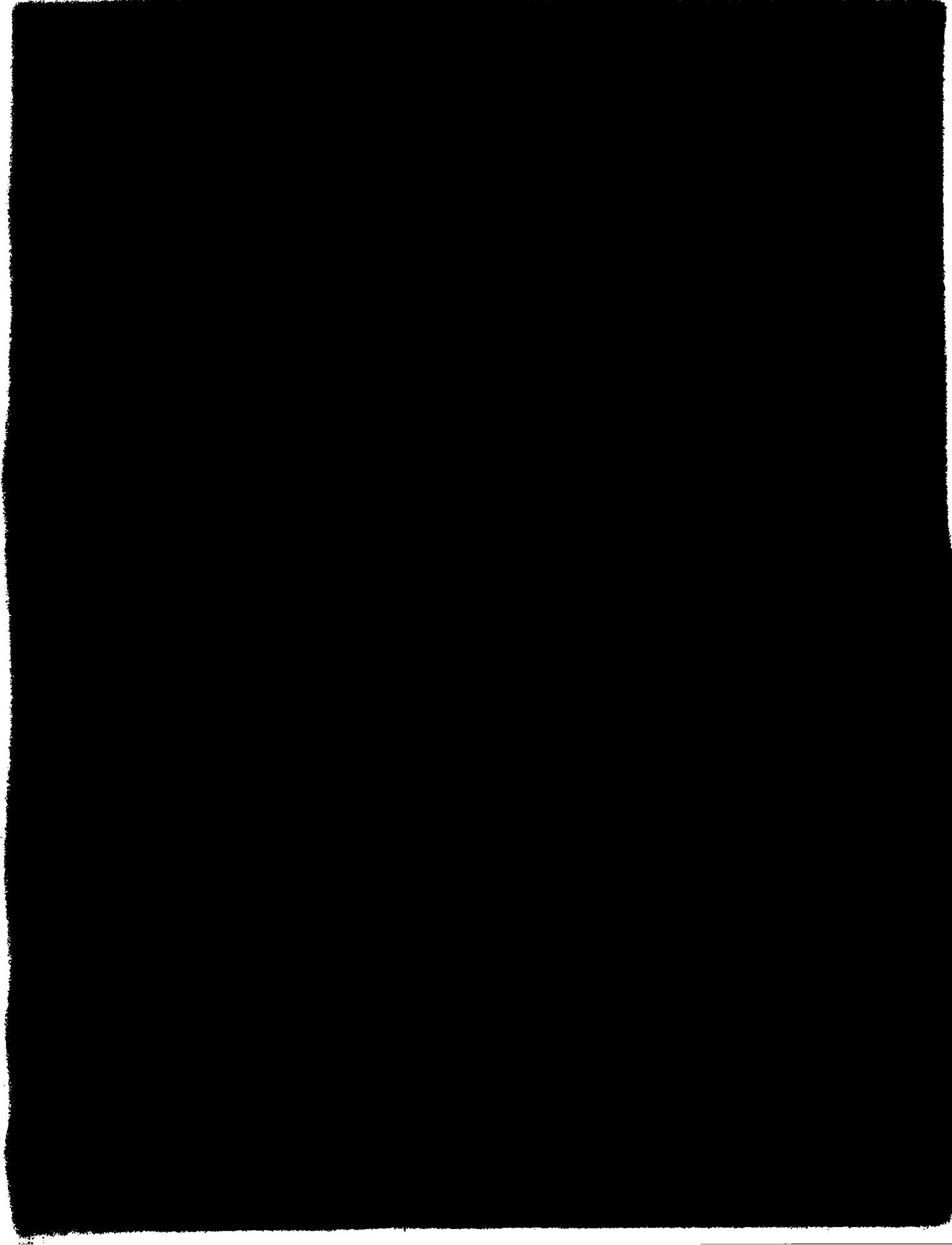
The purpose of this study was to determine the effect of a 12-week, low-intensity, low-impact, and low-impact exercise program on the physical fitness and health-related quality of life of older adults. The study was a randomized controlled trial involving 100 older adults (65 years and older) who were randomly assigned to either a control group (n = 50) or an exercise group (n = 50). The exercise group participated in a 12-week program consisting of three sessions per week, each lasting 30 minutes. The control group did not participate in any exercise program. The exercise program was designed to be low-intensity, low-impact, and low-impact. The primary outcome was the change in physical fitness, measured by the 6-minute walk test (6MWT) and the 400-meter walk test (400MWT). Secondary outcomes included changes in health-related quality of life, measured by the Short Form-36 (SF-36) and the EuroQol-5D (EQ-5D).

Key

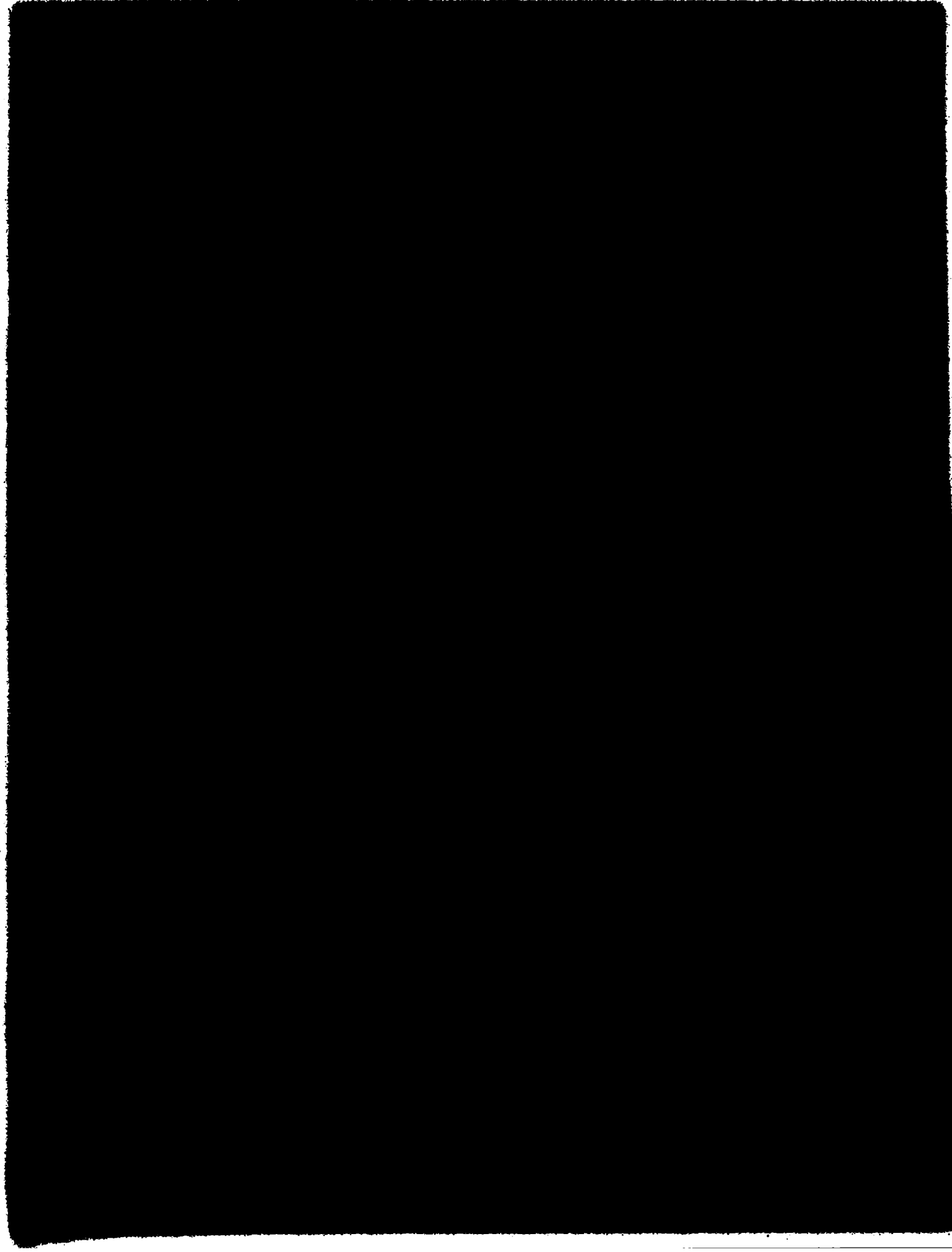
words: older adults, exercise, physical fitness, health-related quality of life, low-intensity, low-impact, low-impact.

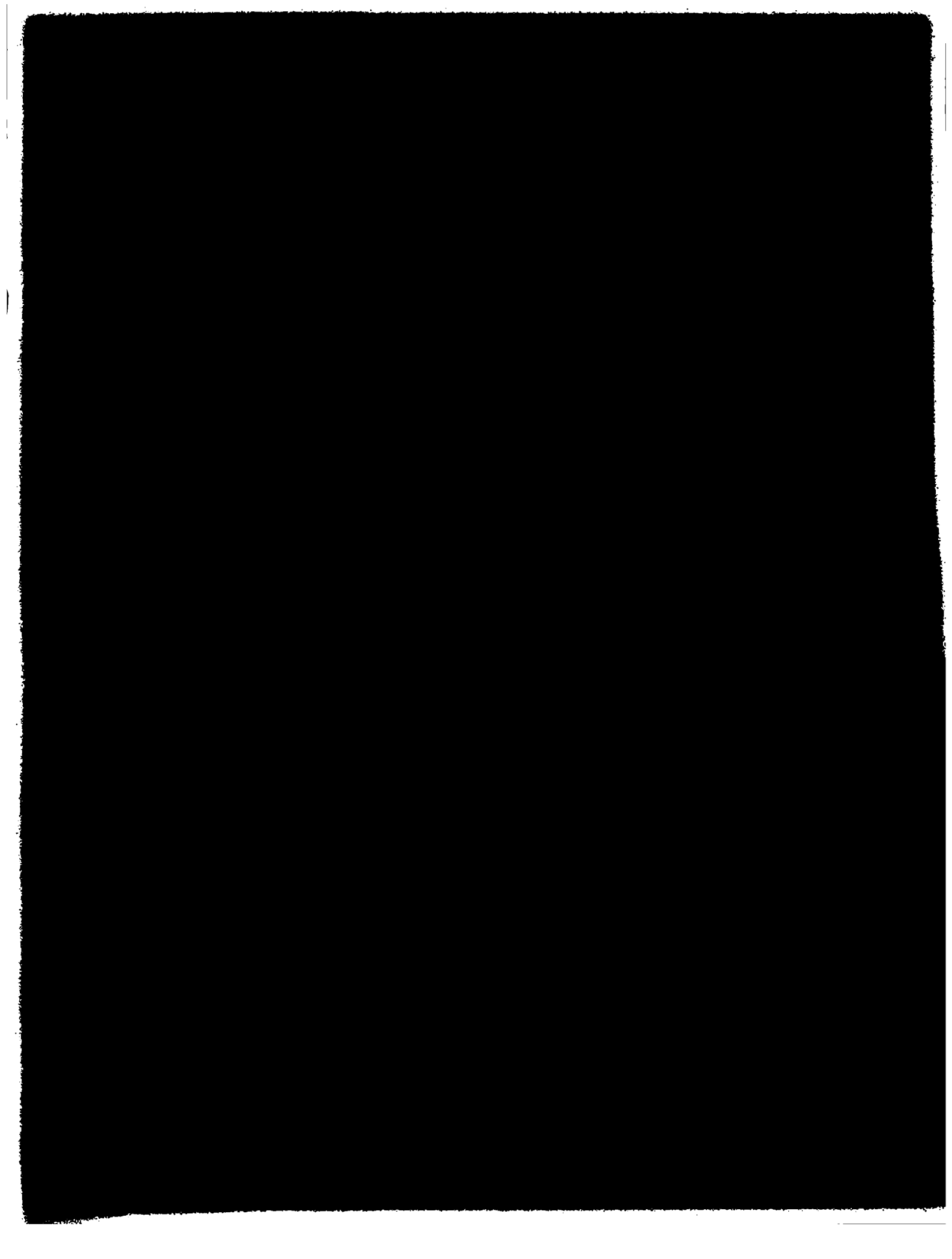


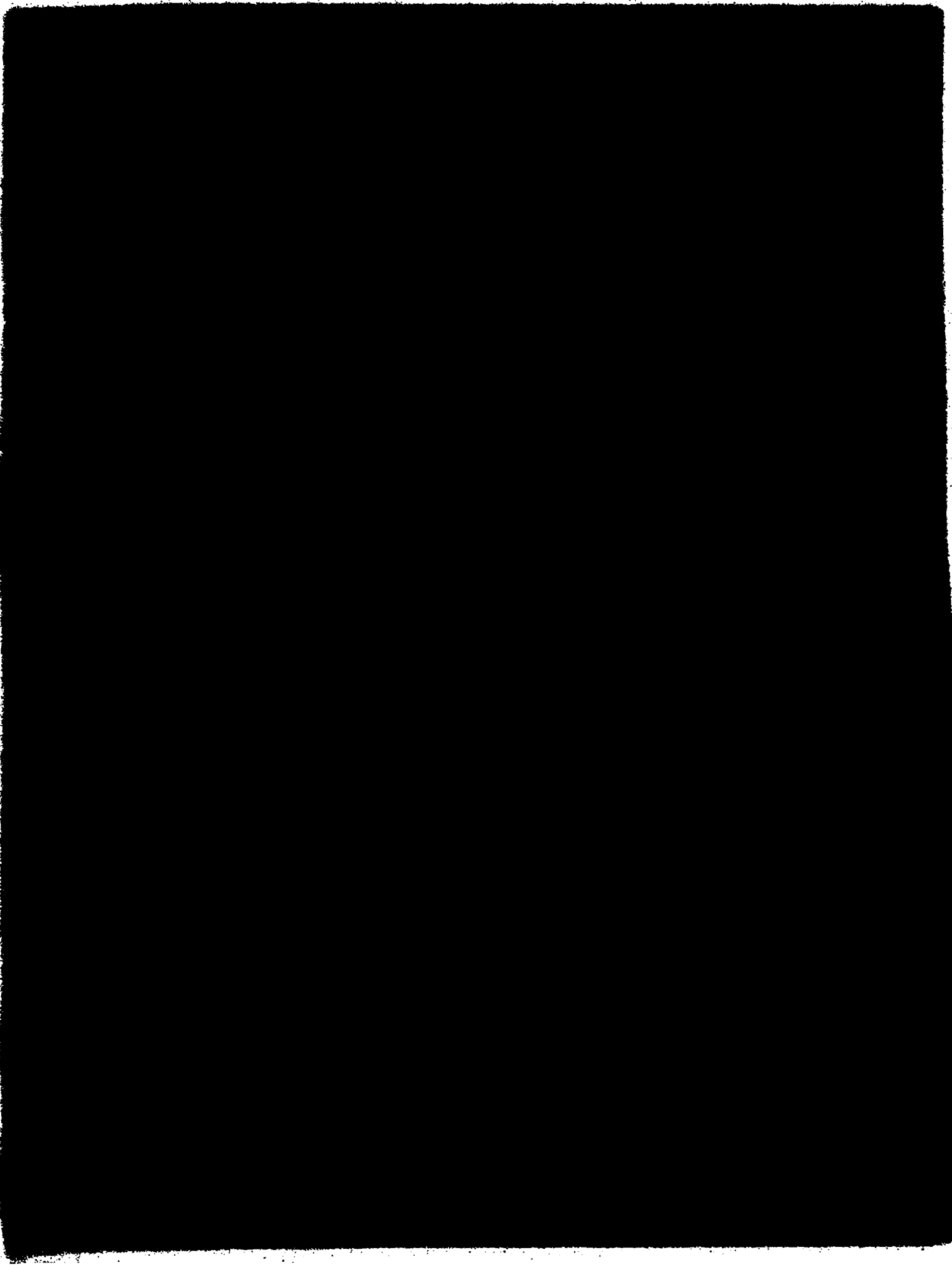




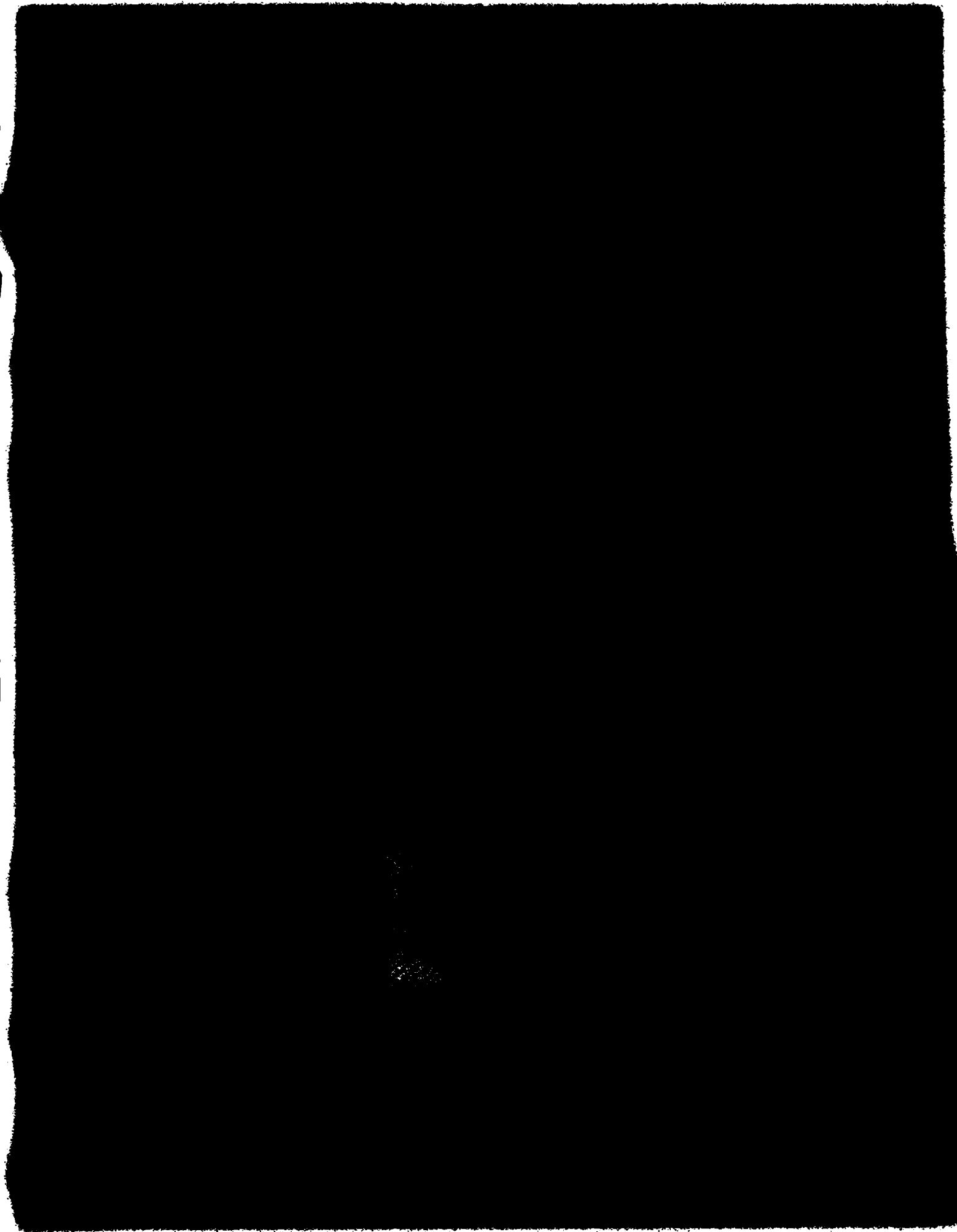
















1950-1951

1. [Illegible text]

2. [Illegible text]

3. [Illegible text]

4. [Illegible text]

5. [Illegible text]

6. [Illegible text]

7. [Illegible text]

8. [Illegible text]

9. [Illegible text]

10. [Illegible text]

11. [Illegible text]

12. [Illegible text]

13. [Illegible text]

14. [Illegible text]

15. [Illegible text]

16. [Illegible text]

17. [Illegible text]

18. [Illegible text]

19. [Illegible text]

20. [Illegible text]

1880-1881

1882-1883

1884-1885

1886-1887

1888-1889

1890-1891

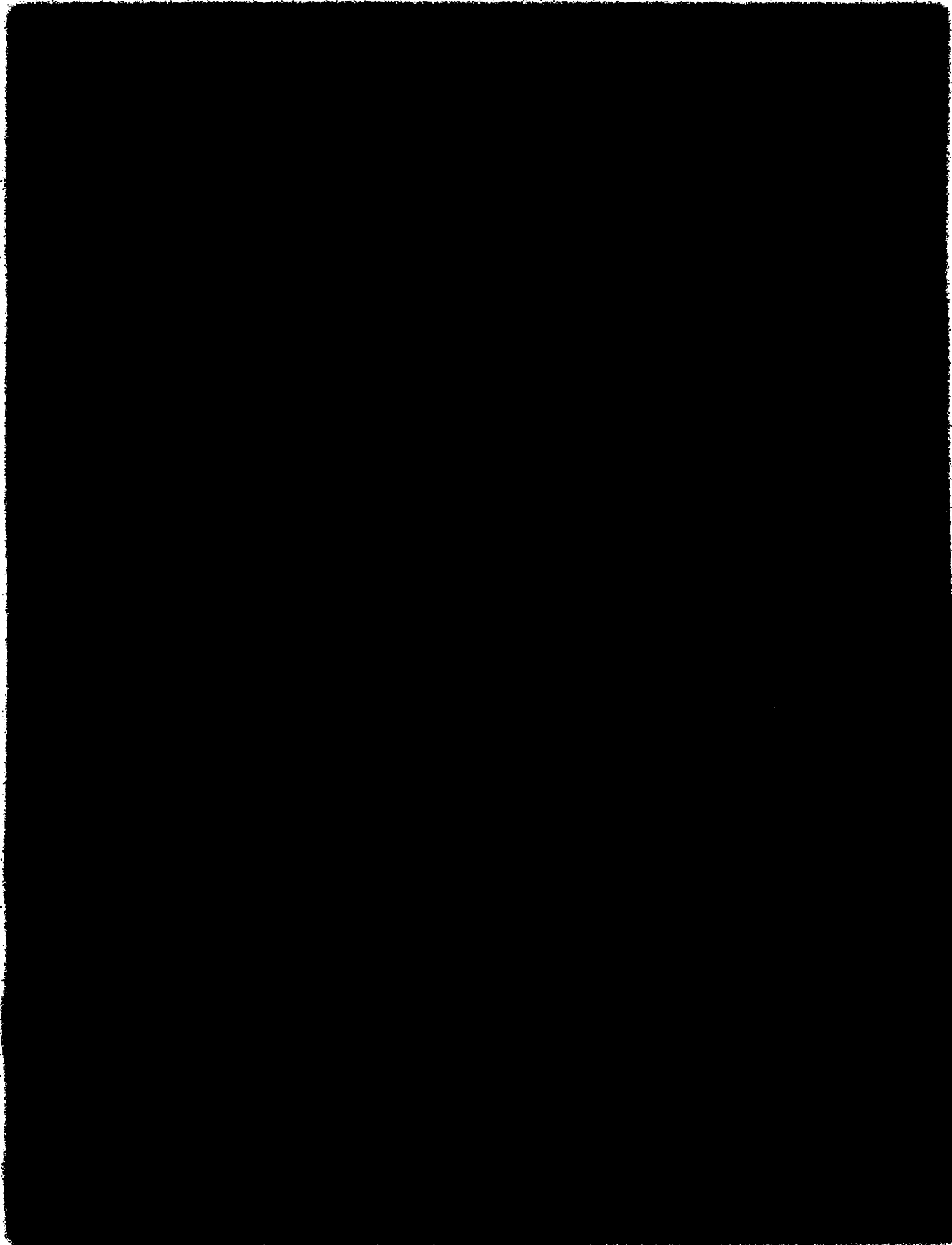
1892-1893

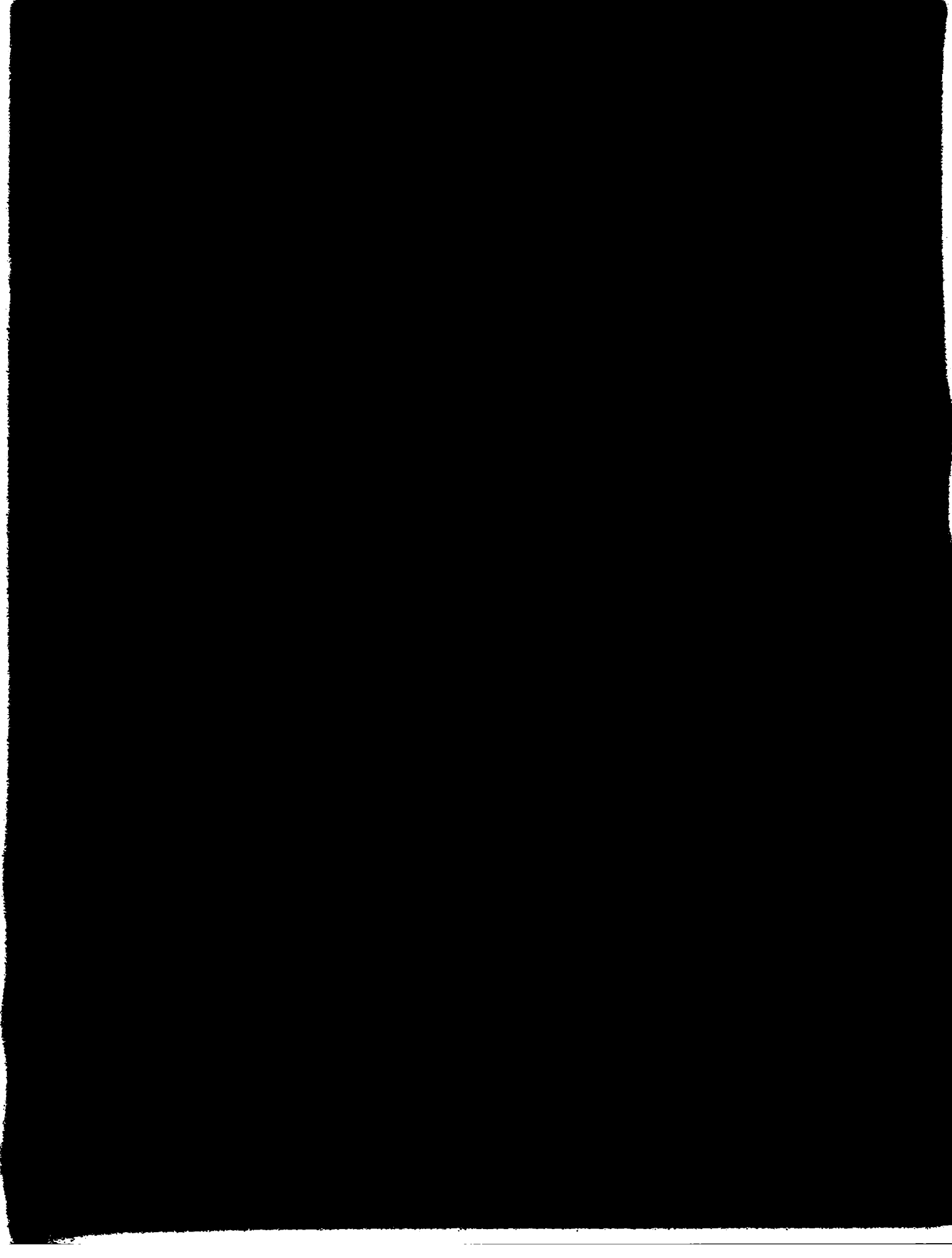
1894-1895

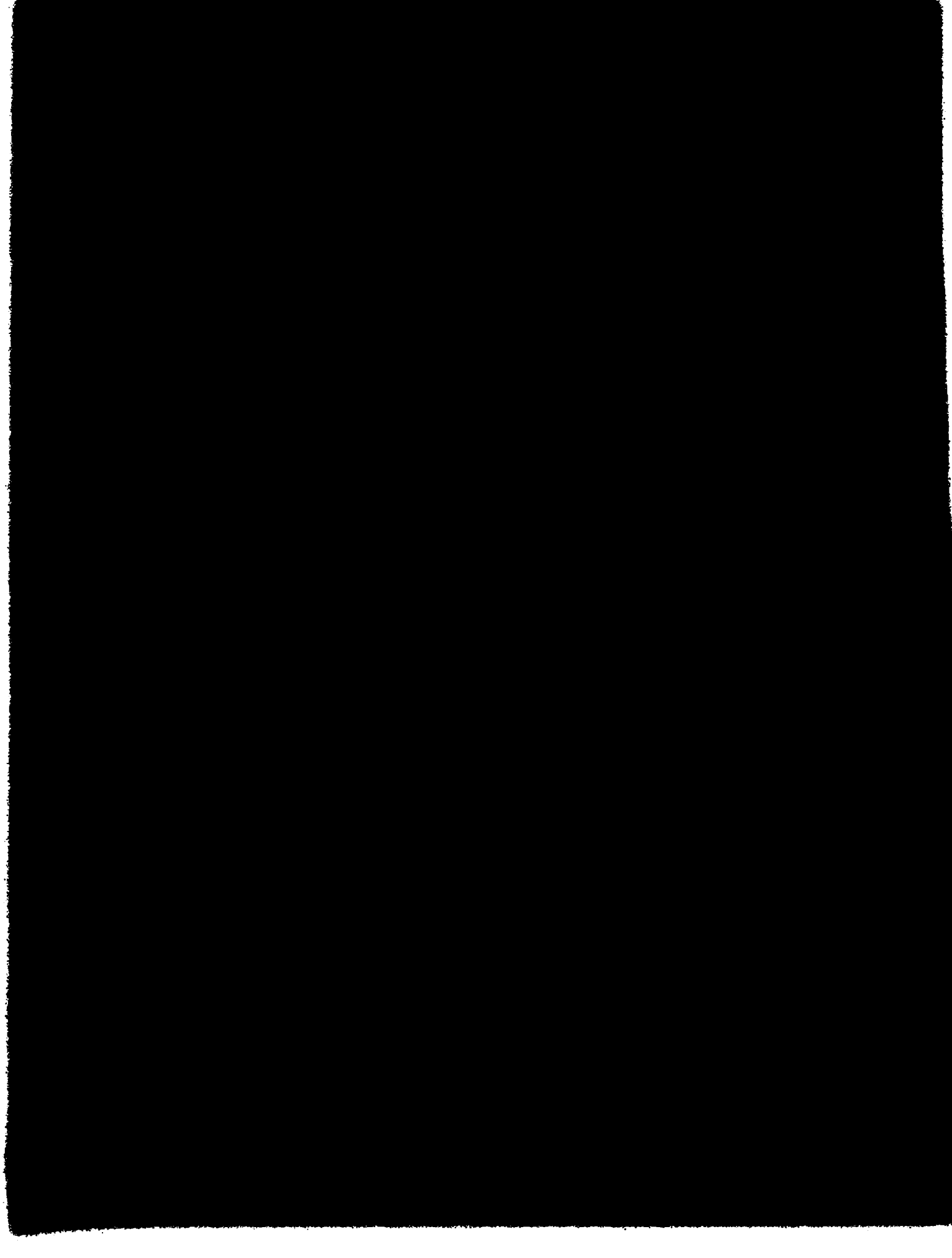
1896-1897

1898-1899

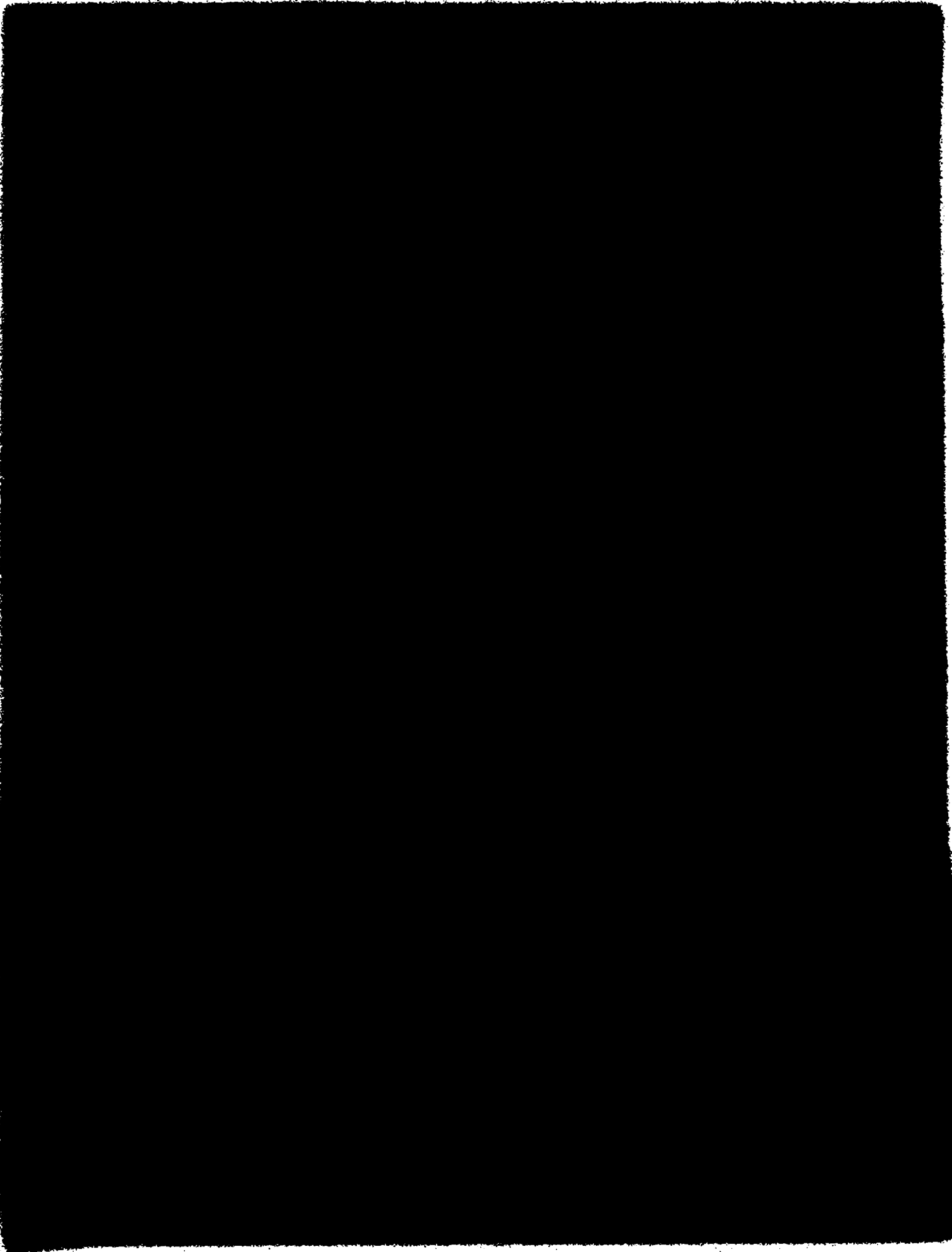
1900-1901













El hecho de que la porfirina obtenida no coincide en todas sus propiedades físicas con la protoporfirina IX puede explicarse por la presencia de otra u otras porfirinas, siendo la más probable la deuteroporfirina IX. Las condiciones de nuestra técnica no han podido separarlas ni por cromatografía ni por cristalizaciones sucesivas. Sin duda alguna la aplicación de nuevas técnicas quizá más específicas o más sensibles y que aún no están a nuestro alcance, permitirá lograr la purificación final.

Por otra parte es un hecho común en el campo de las porfirinas de que por cristalizaciones sucesivas se consiga P.F. constante y, sin embargo, no encontrarse ante una entidad química.

El caso ya mencionado de Waldenström que creyó encontrarse con uroporfirina III y no era más que una mezcla, separable por cromatografía, de uroporfirina I y otra porfirina identificada por su P. F. : 2082 (Grinstein y colaboradores). Caso análogo ocurrió con sus productos de descarboxilación.

#### CONCLUSION

La porfirina escretada por heces de conejos intoxicados con plomo, mencionados por Fischer, y llamada porfirina  $\bar{x}$  por Grinstein y colaboradores, se trataría de protoporfirina IX impurificada por otra u otras porfirinas, probablemente con deuteroporfirina IX.

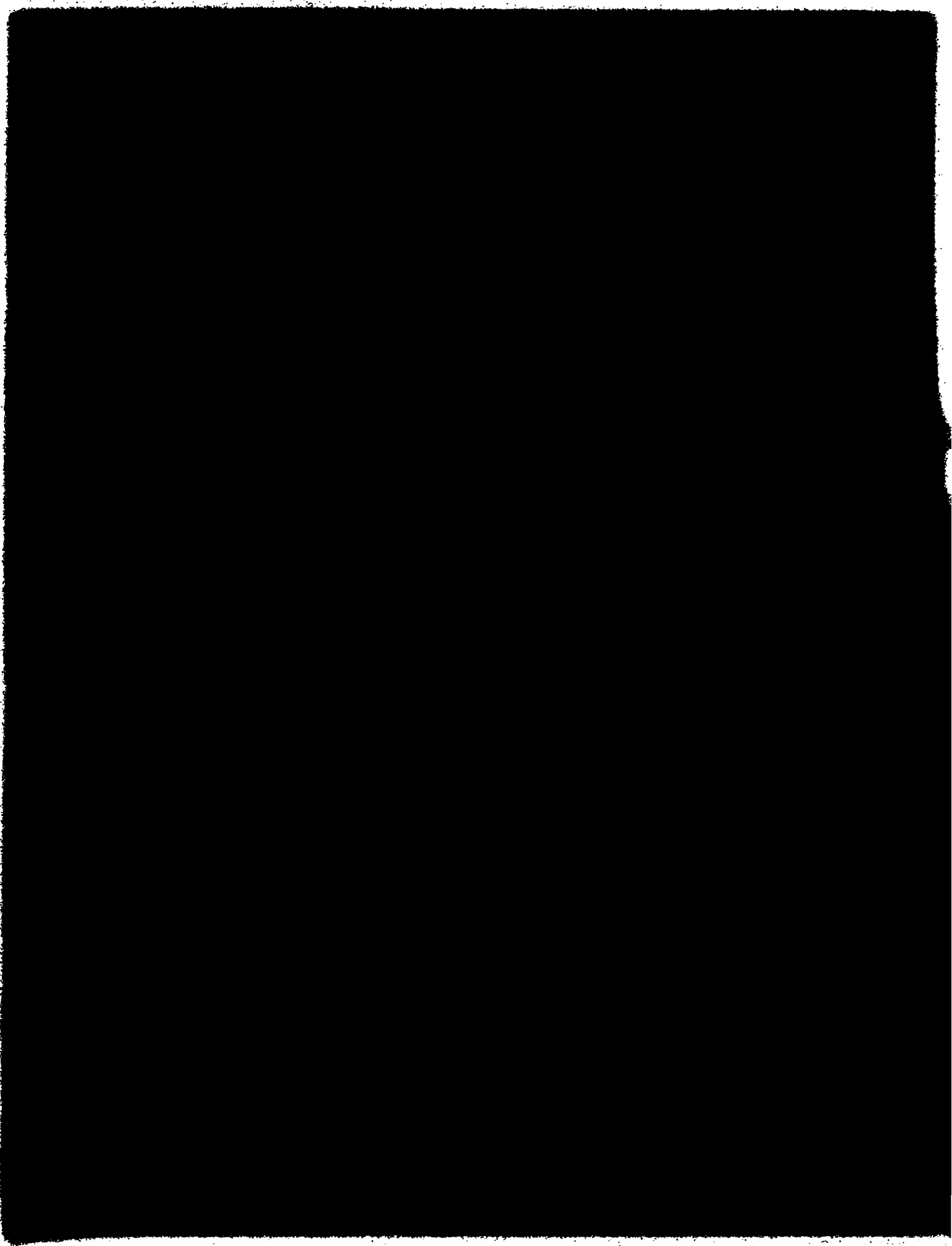
*Waldenström*

*Grinstein*

BIBLIOGRAFIA

- (1)- Scherer, J. Ann. 40, 1, 1841.
- (2)- Lemberg R. y Legge J. V. - Hematin compounds and bile pigments, 1949.
- (3)- Mulder y van Goudoever - J. Prakt. Chem., 32, 186, 1844.
- (4)- Hoppe-Seyler F. - Medizin- Chem. Untersuchungen, Heft 1-4, 1871.
- (5)- Baumstark - Arch. gas. Physiol., 9, 568, 1874.
- (6)- Hencki y Sieber - Arch. f. Exper. Pharmacology, 24, 430, 1884.
- (7)- Hammarsten - Skand. Arch. Physiol., 3, 319.
- (8)- Garrod - J. Physiol., 13, 598, 1892.
- (9)- Saillat - Rev. de Med., 16, 542, 1896.
- (10)- Willstätter R. and A. Stohl - Untersuchungen über das Chlorophyll Springer, Berlin 1913.
- (11)- Kuster W. - Berl. d. Chem. ges., 30, 1831, 1897.
- (12)- Fischer H. - Zeitschr. physiol. Chem., 73, 204, 1911.
- (13)- Cit. por Benard H., Gajdos A. y Tissier M. - Hemoglobine et pigments apparentés.
- (14)- Piloty O. y Tannhauser S. J. - Liebig's Ann. 390, 191, 1912.
- (15)- Kuster W. and Dehlie H. - Z. physiol. Chem., 82, 463, 1913.
- (16)- Fischer H. - Z. Physiol. Chem., 95, 39, 1915.
- (17)- Fischer H. y Zsila K. - Liebig's Ann. Chem., 468, 89, 1929.

- (18)- Fischer H., Treibe A. y Zeile K. - Z.physiol.Chem., 193  
138, 1940.
- (19)- Theorell - Ber.gesam.biol., Bd.113, pag.350, 1939.
- (20)- Fischer H. and Orth H. - Die Chemie des Pyrrols, Py-  
rrolfarbstoffe, II erste Hälfte, Akadem.Verlagsgesell-  
schaft, Leipzig 1937,
- (21)- Fischer H. and Andersen H. - Ann. 458, 117, 1927.
- (22)- Fischer H. and Hierneis J. - Z.Physiol.Chem., 196, 155  
1931.
- (23)- Fischer H., Platz K. and Morgenroth K. - Z.Physiol.  
Chem., 182, 265, 1929.
- (24)- Fischer H. y Fink H. - Z.Physiol.Chem., 250, 243, 1925.
- (25)- Schönheyder F. - J.Biol.Chem., 123, 491, 1938.
- (26)- Günther H.D. - Arch.f.Klin.Med., 105, 89, 1911.
- (27)- Waldenström J. - Acta Med.Scand., 1937, suppl/82,
- (28)- Dobriner K. - J.Biol.Chem., 120, 315, 1937.
- (29)- Hijmans van den Bergh A.A., Grotepass W. y Revers F.E.  
Klin.Woch., 11, 1534, 1932.
- (30)- Watson C.L., Pass J.Jr. et Schwartz S. - J.Biol.Chem.,  
139, 583 y 593, 1941.
- (31)- Vigliani E. - Arch.per.l.Sci.Med., 65, 391, 1938.
- (32)- Mertens E. - Z.Physiol.Chem., 250, 57, 1937.
- (33)- Völker O. - Z.Physiol.Chem., 258, 1, 1939.
- (34)- Zeile K. and Rau B. - Z.Physiol.Chem., 250, 197, 1937.
- (35)- Hoagland R. - J.agric.research., 7, 41, 1916.



- (51)- Schwartz S. - Estudio del metabolismo de las porfirinas, 1946 (no publicado).
- (52)- Salzbarg P. y C.J. Watson - J. Biol. Chem., 139, 593, 1941.
- (53)- Watson C.J. - J. Clin. Invest., 16, 383, 1937.
- (54)- Fischer H. y Hofmann H.J. - Z. Physiol. Chem., 246, 15, 1937.
- (55)- Fischer H. y Müller J.A. - Z. Physiol. Chem., 246, 31, 1937.
- (56)- Grinsteind M., Schwartz S. y Watson C.J. - J. Biol. Chem., 157, 323, 1945.
- (57)- Fischer H. y Libowitzki H. - Z. Physiol. Chem., 281, 220, 1937.
- (58)- Waldenström J. - Acta Med. Scand., 83, 281, 1934 - Deutsche Arch. Klin. Med., 178, 38, 1935.
- (59)- Negelein E. - Biochem. Z., 248, 243, 1932 - 250, 577, 1932.
- (60)- Fox H.M. - Proc. Cambridge Phil. Soc. Biol. Sci., 1, 204, 1924. - Proc. Roy. Soc. (London), 99(B), 199, 1925.
- (61)- Warburg O. - Biochem. Z., 244, 239, 1932.
- (62)- Warburg O. y Negelein E. - Biochem. Z., 244, 9, 1932.
- (63)- Warburg O., Negelein E. y Haas E. - Biochem. Z., 227, 171, 1930.
- (64)- Fischer H. y van Seemann G. - Z. Physiol. Chem., 242, 133, 1936.
- (65)- Fischer H. y Tecker G. - Z. Physiol. Chem., 272, 1, 1941.

(66) - Fischer H. y Deilmann K.O. - Z.physiol.Chem., 280, 186  
1944.

(67) - Citados por (2), pág. 77.

(68) - Dhéré Ch. y Aharoni J. - Compt.rend., 190, 1499, 1930.

(68) - Dhéré Ch. y Biermachar O. - Compt.rend.biol., 120, 1162  
1935.

(70) - Dhéré Ch. y Biermachar O. - Compt.rend., 202, 442, 1936.

(71) - Dhéré Ch. y Bois E. - Compt.rend., 183, 321, 1926.

(72) - Stern A. - Z.Physik Chem., 174 A, 332, 1935 - 175 A,  
434, 1936. - Angew.Chem., 49, 55, 1936.

(73) - Stern A. y Dezelic M. - Z.Physik Chem., 176A, 40, 1936

(74) - Stern A. y Folvig H. - Z.Physik Chem., 175A, 38, 1936-  
176, 209, 1936.

(75) - Stern A., Wenderlein H. y Folvig H. - Z.Physik Chem.,  
177A, 40, 1936.

(76) - Jope E.M. y O'Brien J.R.P. - Biochem.J., 39, 239, 1945.

(77) - Cit. por Carris - Die Porphyrine, 1936.

(78) - Ganges A. - Z.Biol., 34, 505, 1897.

(79) - Schumm - Spektorch.Anal.nat.organ.Farbstoffe, 1927 cit.  
por (77).

(80) - Bois E. - Recherches spectrochimiques sur quelques por-  
phyrines animales, Dissertation, Fribourg, Switzerland,  
1927.

(81) - Kapp-Brit - J.Exp.Path., 20, 33, 1939.

(82) - Schmitz A. - Arch.Anat.Physiol.Suppl., 1904, 271.



- (83)- Laidlow P.P. - J.Physiol., 31, 464, 1904.
- (84)- Milroy J.A. - J.Physiol., 38, 384 y 392, 1909.
- (85)- Zalesky J. - Z.Physiol.Chem., 43, 11, 1904-5.
- (86)- Mertens - Z.Physiol.Chem., 250, 53, 1937.
- (87)- Fischer H. - Abderhalden Hand.d.Biol.Arbelts.Meth., 1/11 H.2, 1927.
- (88)- Garrod - J.of Physiol., 13, 598, 1892.
- (89)- Dobriner y col. - J.of Biol.Chem., 113, 1, 1936. Pro. soc.Biol.Med. 36, 752, 1937.
- (90)- Waldenström - D.Arch.f.Klin.Med., 178, 38, 1935.
- (91)- Grinstein M. - Revista de la Sociedad Arg.de Biología, 20, 630, 1944.
- (92)- Zechmeister y Cholnoky - cit en (91).
- (93)- Nicholas R. - The Bioch.Journal, 48, 306, 1951.
- (94)- Nicholas R. y Rimington C.H. - Scand.J.Clin.E.Lab.Inv. 1, 12-18, 1949.
- (95)- Grinstein M. y colaboradores - 182, 723, 1950.
- (96)- Chu T.C., Sister Agnes Ann Green and Edith Ju-Hwa-Chu - J.Biol.Chem., 190, 643, 1951.
- (97)- Conden, Gordon y Martin - cit. en (96).
- (98)- Fischer H. y Kögl F. - Z.Physiol.Chem., 131, 241, 1923.
- (99)- Schultze M.O. - J.Biol.Chem, 142, 89, 1942.
- (100)- Grinstein M. y Watson C.J. - The J.of Biol.Chem., 147, 671, 1943.
- (101)- Fischer H. - Exp.Path.u.Pharma., 166, B.1932, Berlin.