

В. С. ИСУПОВ

**ДЕЙСТВИЕ ИОДА НА ЦИКЛОГЛИЦИЛ-ГЛИЦИН И БИОЛОГИЧЕСКОЕ
ЗНАЧЕНИЕ ПОЛУЧЕННОГО ПРОДУКТА**

(Представлено академиком Л. А. Орбели 22 II 1939)

Соединения иода и других галоидов с продуктами деградации белка и с синтетически полученными продуктами белковой природы представляют не малый теоретический и практический интерес. Известно, что до сих пор еще неиспользованы многие химические методы и условия иодирования различных аминокислот, пептидов и циклопептидов.

В области химических и биологических изысканий о значении иодсодержащих органических препаратов получено немало замечательнейших данных, особенно о роли тироксина и диодтирозина, с того времени, когда были сделаны открытия Кендалем и Харингтоном, но исследований по синтезу биологически активных иодсодержащих препаратов при помощи одной только HI , исходя из циклопептида (дикетошперазина), не было известно.

Нам удалось, исследуя различные реакции, иода с циклопептидами, пептидами и аминокислотами выработать простую методику для иодирования циклоглицил-глицина иодистоводородной кислотой в мягких условиях. Для иодирования циклоглицил-глицина последний вносился в трубки из молибденового стекла, в которые была налита иодистоводородная кислота 25% концентрации на $\frac{1}{2}$ общего объема трубки. Затем трубки запаивались и помещались в кипящую водяную баню для нагревания. Опыты показали, что лучшими условиями для реакции является нагревание трубок в течение 6 часов и что концентрация циклоглицил-глицина и HI должна быть: на 1.0 г циклоглицил-глицина 50 см³ 25% HI . В этих условиях весь взятый исходный материал вступает в реакцию, и не остается неиодированного продукта.

Трубки после охлаждения вскрывались. При этом наблюдалось всякий раз выхождение газообразных продуктов. Полученная после нагревания в трубках жидкость цвета концентрированного иодного раствора в спирте подвергалась отгонке с целью устранения избытка иода и иодистоводородной кислоты и воды. Остаток вещества после отгонки содержал иодированный продукт и кроме того свободный иод. Остаток разбавлялся хлороформом, свободный иод переходил в раствор. Производилась вторичная отгонка для того, чтобы устранить хлороформ и растворившийся в нем иод. Остаток еще содержал небольшое количество свободного иода. Приходилось повторно добавлять хлороформ, растворять остаток свободного иода и отгонять. После двойного промывания в хлороформе и отгонки остаток все еще был буроватого цвета. Далее к остатку приливался ацетон, колба с содержимым нагревалась до кипения ацетона в колбе с обратным холодильником и весь раствор после кипячения переносился

в стакан для кристаллизации. Смесь охлаждалась на льду. Через несколько минут было заметно появление кристаллов игольчатой формы. Изолированные кристаллы перекристаллизованы из ацетона три раза; было получено кристаллическое вещество белого цвета. Очищенное кристаллическое вещество давало яркую положительную качественную реакцию на содержание иода при действии на вещество раствора хлорамина.

Неоднократное повторное иодирование по описанной выше методике приводило к тождественным результатам. Получаемый подсодержащий кристаллический продукт легко растворим в холодной воде. Водный бесцветный раствор совершенно прозрачен и не дал окраски при хранении в течение длительного времени. Необходимо указать, что выход иодированного продукта в сравнении с взятым исходным материалом составляет в среднем 50%.

Для выяснения количественного содержания иода в полученном препарате он был подвергнут анализу по двум способам: по способу Готье⁽¹⁾ и по способу Лейперта⁽²⁾. Взятые навески вещества, высушенного до постоянного веса, анализированные по способу Готье и Лейперта, показали повышенные цифры иода. Это побудило проверить содержание иода по двум еще другим способам (Фольгарта и Степанова). Полученный иодированный продукт при определении его точки плавления разлагается при $t^{\circ} 224^{\circ}$.

Элементарный анализ дал следующие результаты:

Содержание иода

I. Определение иода по Фольгарту: к навескам вещества, растворенного в небольшом объеме воды, приливался избыток азотносеребряной соли с титром 0.02327 г/мл AgNO_3 . Избыток оттитровывался роданистым калием.

- 1) 0.0973 г; 2.50 мл AgNO_3 ; 44.67% J.
- 2) 0.1345 г; 3.44 мл AgNO_3 ; 44.47% J.

II. Определение иода по Степанову:
0.2228 г; 5.65 мл AgNO_3 ; 44.10% J.

III. Определение углерода и водорода:
0.1175 г; 0.0814 г CO_2 ; 0.0517 г H_2O .
Найдено: C—18.90%; 18.60%; H—4.92; 4.64%.

IV. Определение содержания азота по Дюма:

- 1) 0.1234 г; 12.2 мл N_2 .
h=748.7 мм; $t=14^{\circ}$.
- 2) 0.1026 г; 10.57 мл N_2 .
H=754.5 мм; $t=17^{\circ}$.
Найдено N—11.40%; 11.80%.

Средние результаты:

J	— 44.57%
C	— 18.75%
H	— 4.78%
N	— 11.60%
O	— 20.30%

100%

Вычислено на $\text{C}_9\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_7\text{Y}_2$

C	— 19.41%
H	— 3.75%
N	— 12.39%
O	— 19.81%
Y	— 44.91%

99.97%

Вычисление данных элементарного анализа дает все основания считать, что элементарный состав подсодержащего продукта следующий: $\text{C}_9\text{H}_{21}\text{N}_5\text{O}_7\text{J}_2$, но молекулярный вес подсодержащего продукта не удалось определить по криоскопическому методу, а также по методу Раств. При определении молекулярного веса иодированный продукт сильно диссоциировал.

Выяснение природы полученного продукта было бы не исчерпано проведенным анализом, поэтому полученное подсодержащее вещество надо было дезиодировать, чтобы иметь возможность обсудить происшедшую реакцию иодирования. Работы по очистке препарата и его анализу позволяли сделать заключение, что иод не вошел в кольцо циклоглицилглицина или другого происшедшего продукта в результате действия HJ . Нагревание вещества в этиловом спирте в течение одного часа в колбе

с обратным холодильником приводит к отщеплению иода, и последующее повторное кипячение позволяет очистить препарат от иода целиком.

Полученный дезиодированный продукт представляет собой кристаллы белого цвета, хорошо растворимые в воде. Форма кристаллов в виде пучков.

Дезиодированный по указанному выше способу продукт был анализирован и получены следующие результаты:

- 1) 0.0809 г; 0.1004 г CO₂; 0.0595 г H₂O.
- 2) 0.0783 г; 0.0963 г CO₂; 0.0599 г H₂O.
- 3) 0.0810 г; 12.3 мл N₂, t=19°, h=748.1.

Найдено: C — 33.85%, 33.54%;
H — 8.23%; 8.56%;
N — 17.03%.

Среднее содержание:

C — 33.69%
H — 8.39%
N — 17.03%
O — 40.89%

Вычислено на C₄H₁₀N₂O₄

C — 33.72%
H — 8.31%
N — 41.40%

100%

99.99%

Молекулярный вес дезиодированного продукта, определенный по криоскопическому методу, установлен в пределах около 175.

Вычисление данных элементарного анализа показало, что элементарный состав дезиодированного продукта следующий: C₄H₁₀N₂O₄. Различные качественные реакции, проведенные с дезиодированным препаратом, дали возможность обнаружить образование формальдегида и метиламина.

К водному раствору продукта прибавлялся избыток аммиака, железисто-синеродистого калия и соляной кислоты. Получены при этой реакции характерные кристаллы гексаметилен-тетрамина (ромбические и шестисторонние таблички, хорошо видимые под микроскопом), указывающие на присутствие формальдегида. Кроме того была проведена реакция на присутствие формальдегида с сернокислым раствором дифениламина. Водный раствор дезиодированного продукта дал в пробирке изумрудно-зеленое кольцо. Контрольные опыты с раствором чистого формальдегида давали такие же положительные реакции.

Присутствие метиламина было обнаружено прибавлением к водному раствору дезиодированного продукта хлорной платины. Выпадали желтые кристаллы формы призм. Эти кристаллы хорошо были видны на предметном стекле под микроскопом и указывали на наличие метиламина.

Добавление к водному раствору дезиодированного вещества пикриновой кислоты давало выпадение кристаллов желтого цвета в форме длинных пластинок, что является характерной реакцией на метиламин.

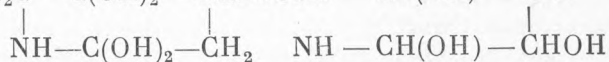
Для выяснения строения иодсодержащего продукта, полученного при нагревании циклоглицил-глицина с HI в запаянной трубке и имеющего элементарный состав H₂₁N₃I₂, это вещество было дезиодировано, причем было получено вещество состава C₄H₁₀N₂O₄, представляющее собой тетрагидроксипиперазин.

Иодированный продукт состоит из двух частиц тетрагидроксипиперазина, связанных между собой группой HN—CH.

Происхождение иодированного продукта из циклоглицил-глицина можно представить следующим образом:

И с т у п е н ь:

Дисмутация циклоглицил-глициндигидрата в тетрагидроксипиперазин:

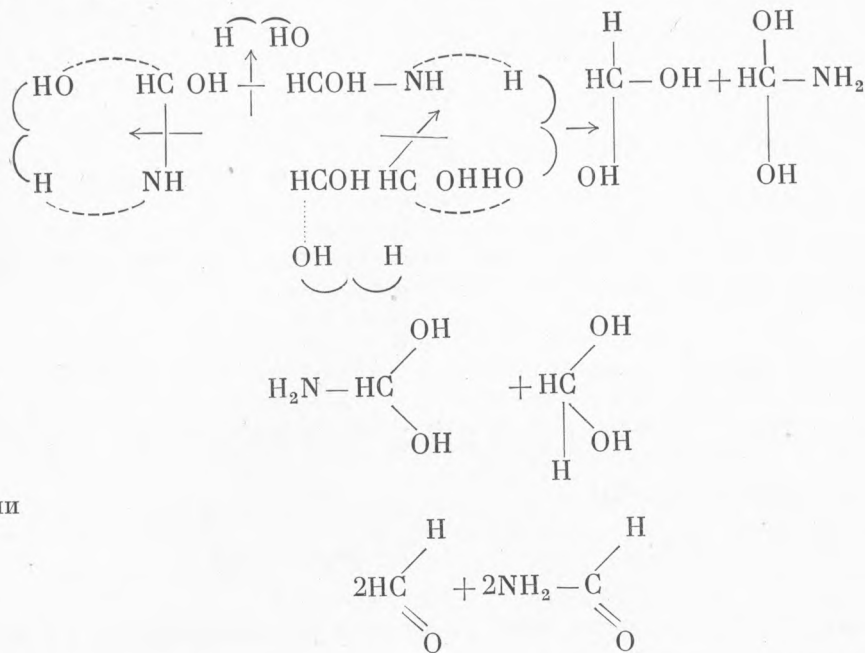


Дигидрат циклоглицил-глицина.

Тетрагидроксипиперазин.

II ступень:

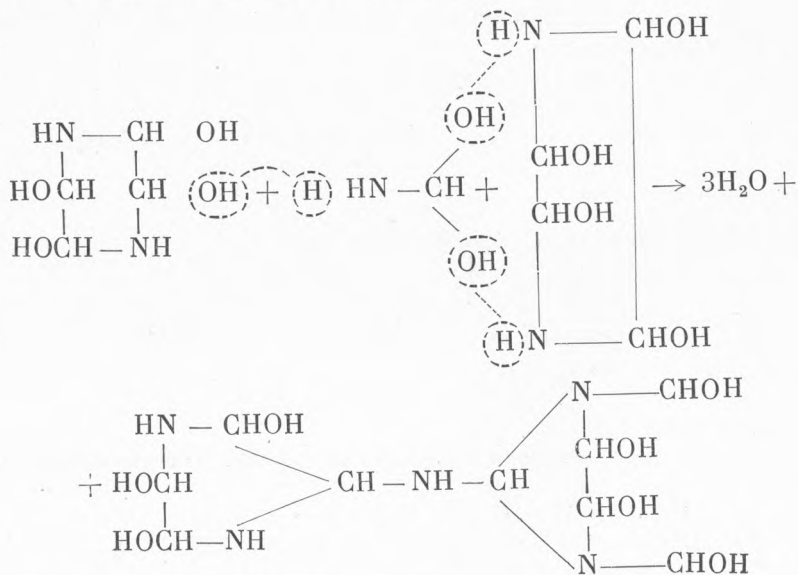
Образование связующего звена —NH—CH=. Это звено является карбаминалем (карбаминовым альдегидом), который образовался при окислении тетрагидроксипиперазина; последний распадается на две частицы формальдегида и две частицы карбаминового альдегида.



Формальдегид легко образуется из тетрагидроксипиперазина, как можно установить при помощи ряда реакций.

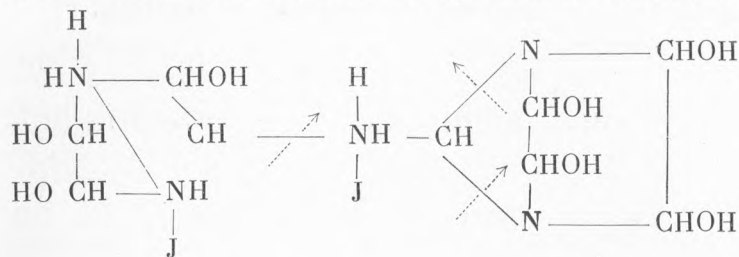
III ступень:

Конденсация двух частиц тетрагидроксипиперазина с частицей карбаминового альдегида в момент его образования:

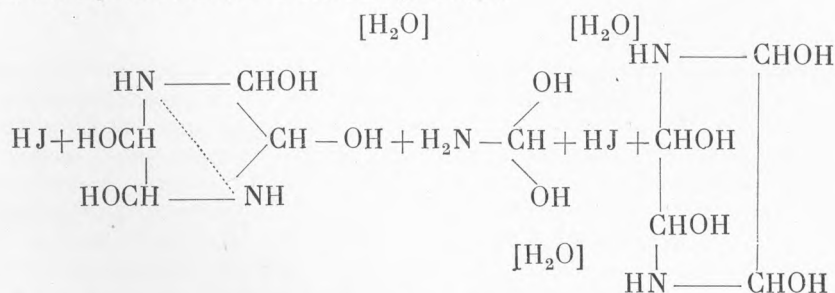


IV ступень:

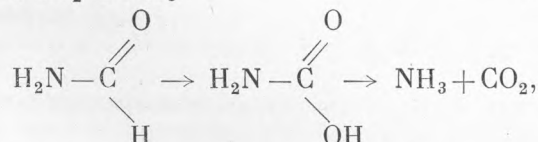
Присоединение двух частиц HJ. Сравнительно легкое дезиодирование продукта, а также присоединение не трех, а только двух частиц HJ заставляет допустить следующее строение иодированного соединения:



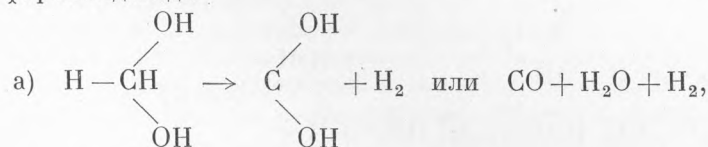
Что же касается дезиодирования, то его можно представить, как гидролитическое расщепление согласно реакции:



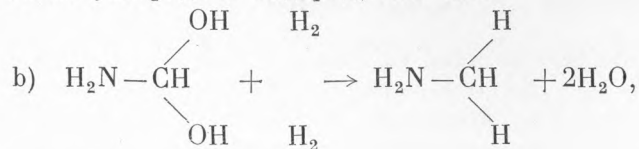
Карбаминный альдегид либо окисляется в карбаминную кислоту и распадается на CO_2 и NH_3 :



либо он испытывает восстановление водородом, который образуется при распаде формальдегида:

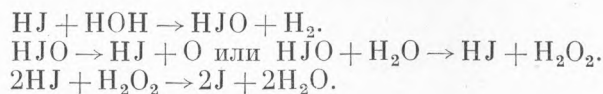


т. е. на окись углерода и водород, или же:



т. е. на метиламин и воду.

Фактором окисления является перекись водорода, возникающая следующим образом:



Аминокислоты и пептиды при описанных условиях с HJ показали, что не способны образовать иодированных производных. Описанная в данной работе реакция В. Садикова и В. Исупова осуществляется только при наличии пептинового (диоксопиперазинового) кольца. Дальнейшие опыты должны показать, образуются ли аналогичные продукты с замещенными пептидами, например с циклоаланил-аланином, с циклолейцин-валином и т. п.

Добавим здесь, что весь исходный материал циклоглицил-глицин получался нами из гликоколла при нагревании его в автоклаве в смеси с глицерином в трубках из молибденового стекла. Нагревание производилось до 200° в течение 2 и $2\frac{1}{2}$ часов.

В заключение нашей работы были поставлены опыты на животных, имеющие лишь предварительный характер.

Было выяснено, что введение в вену кошки 0.03 иодированного препарата вызывает понижение кровяного давления. Деиодированный препарат, введенный в вену другой кошки, не вызывает сколько-нибудь заметного эффекта. Также не вызывает никакого действия на кровяное давление кошки введенный ей в вену диодтирозин в дозе 0.03. Введение полученного иодированного продукта в полость аксолотлей в дозе 0.004 вызывает превращение их в амблистому в течение 38 дней. Дальнейшие опыты по выяснению биологического действия полученных препаратов позволяют доказать их практическое значение в медицине.

Выражаю благодарность проф. В. С. Садикову за оказанную им помощь.

Биохимическая лаборатория
Физиологического института им. И. П. Павлова.
Академия Наук СССР.

Поступило
25 II 1939.

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

¹ G a u t i e r, Bull. Soc. Chim. de France, II, 219 (1937). ² L e i p e r t, Bioch. ZS., 4—6, 436—443 (1933).