

Л. Н. АКИМОВА и Н. И. ГАВРИЛОВ

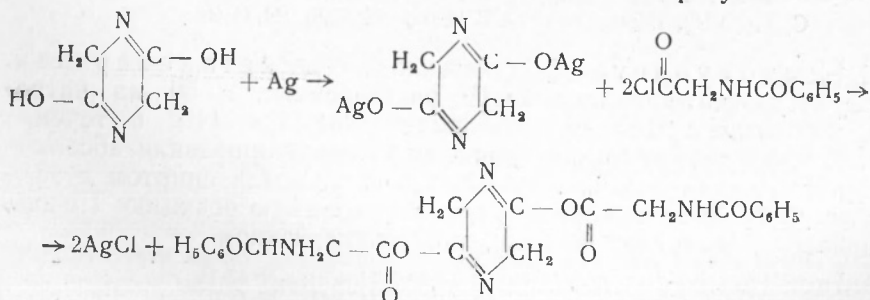
# О СВЯЗИ МЕЖДУ ДИКЕТОПИПЕРАЗИНАМИ И АМИНОКИСЛОТАМИ

(Представлено академиком Н. Д. Зелинским 18 VII 1950)

После того как Н. Д. Зелинским, В. С. Садиковым<sup>(1)</sup>, Н. И. Гавриловым<sup>(2)</sup> и школой Абдергальдена<sup>(3)</sup> была доказана нативность циклических форм связей, возник вопрос о структуре более сложных соединений, а именно, производных дикетопиперазина с пептидами и аминокислотами, тем более что ряд соединений, состоящих из 3—5 аминокислот и обладающих циклоангидридным строением, был выделен Н. Д. Зелинским и В. С. Садиковым<sup>(4)</sup> и Абдергальденом с сотрудниками<sup>(5)</sup>. Первые шаги в этом направлении были предприняты Майяром<sup>(6)</sup>.

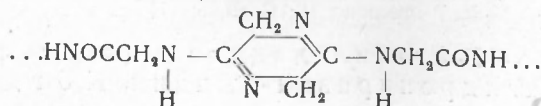
Абдергальденом и Швабом<sup>(7)</sup> были проведены систематические исследования по синтезу N-аминоацильных производных дикетопиперазинов<sup>(8-13)</sup>. Но ни в одном случае ими не было получено индивидуальных, хорошо охарактеризованных соединений. Работами М. Бергмана<sup>(14)</sup>, Н. И. Гаврилова и Х. Н. Лерман<sup>(11)</sup> и Л. Н. Акимовой<sup>(15)</sup> была показана принципиальная невозможность избранного Абдергальденом пути синтеза N-аминоацилдикетопиперазинов. Таким образом, до сих пор никому не удалось получить N-аминоацильные производные дикетопиперазинов.

Получение ациламинных соединений по энолам дикетопиперазинов также не привело Каррера<sup>(16)</sup> к положительным результатам.



Наибольший интерес представляли работы Абдергальдена с хлор-ацильными производными дикетопиперазинов. В предыдущей статье<sup>(20)</sup> показана своеобразная реакционность N-ацильных соединений, приведшая нас к методике получения: 1) экзо-ацильных аминокислотных (пиперазиновых) амидинов, 2) их эфиров, 3) гидратов этих эфиров и 4) свободных амидинов.

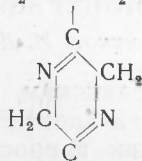
Кроме того, нами разработан метод получения пиперазинов и ди-гидропиперазинов, амидинно-связанных с аминокислотами и пептидами, и, таким образом, доказана возможность четвертой формы связи у дикетопиперазинов и аминокислот



Несмотря на неуспех Абдергальдена и наш по получению аминоксильных производных, мы все же считаем исключительно важным синтез этих соединений, могущих находиться в структуре микромолекулы белка. Эта форма связи и была нами осуществлена.

Исходя из легкости ацилирования дикетопиперазинов хлорангидридами кислот, мы получили хлорангидриды гликоколя, защищая аминоксильную группу фталил-, толуолсульфо- и бензилсульфо-группами.

N, N'-дифталилглициндикетопиперазин мы сочетали с эфиром гликоколя по нашей методике получения экзо-ациламидинов и получили



два фталилглицилглицинпептида, соединенных посредством дигидропиперазинового мостика. Доказательством строения этого соединения является гидролиз его до фталилглицина и гликоколя, идущий при 40°, 1% соляной кислотой.

I. 1,4-дифталилглицин-2,5-дикетопиперазин. 1,9 г фталилглицинхлорида<sup>(17)</sup>, тщательно истертых с 0,48 г дикетопиперазина, нагревались в 25 мл ксилола 20 минут на водяной бане (кипящей), а затем 5 часов на сплаве Вуда при 142°. Осадок промыт бензолом и обработан для удаления дикетопиперазина кипящей водой. Осадок, не растворившийся в воде, промыт спиртом и эфиром. Т. пл. 385° с разложением. Выход 83%. Частично растворим в кипящем ксилоле и уксуснометиловом эфире, а также в ацетоне. Пикриновая и нингидриновая реакции отрицательны. Перекристаллизовывается из нитробензола.

Найдено %: C 58,98; H 3,31; N 11,43  
 $\text{C}_{24}\text{H}_{16}\text{O}_8\text{N}_4$ . Вычислено %: C 59,01; H 3,28; N 11,48

II. 1,4-дитолуолсульфоглицин-2,5-дикетопиперазин. 3,7 г толуолсульфоглицинхлорида<sup>(18)</sup>, растворенных в 50 мл нитробензола, нагревали с 0,85 г дикетопиперазина при 140° в течение 2 часов. К профильтрованному горячему раствору прибавили абсолютный эфир. Выпавший осадок отфильтровали, промыли спиртом и эфиром. Т. пл. 220°. Дает положительную ангидридную реакцию. По анализу является моноацилированным дикетопиперазином.

\* Найдено %: C 47,85; H 4,51; N 13,21  
 $\text{C}_{13}\text{H}_{15}\text{O}_5\text{N}_5\text{S}$ . Вычислено %: C 48,0; H 4,61; N 12,92

III. 1,4-добензилсульфоглицин-2,5-дикетопиперазин. 1,3 г бензилсульфоглицинхлорида<sup>(19)</sup>, растворенных в 30 мл нитробензола, нагревали с 0,3 г дикетопиперазина при 140° в течение 30 минут. Горячий раствор, профильтрованный через стеклянный фильтр, осажден абсолютным эфиром. Выпавший при стоянии осадок отфильтрован и промыт спиртом. Перекристаллизовали из нитробензола. Т. пл. 226° с разложением. Положительная — ангидридная и отрицательная — нингидриновая реакции

Найдено %: C 49,18; H 4,51; N 10,58  
 $\text{C}_{22}\text{H}_{24}\text{O}_8\text{N}_4\text{S}_2$ . Вычислено %: C 49,25; H 4,47; N 10,45

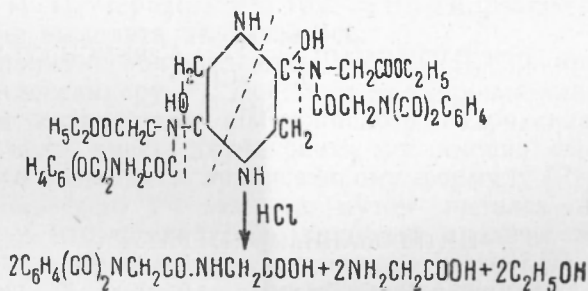
IV. Ди-экзо-N-фталилглицилглицинэтиловый эфир-гидрат-2,5-дигидропиперазин-амидин. К 5 г дифталилглицин-

2,5-дикетопиперазина в 25 мл абсолютного эфира прибавляли 2,1 г (2 моля) этилового эфира гликоколя. Раствор взбалтывали на качалке в течение недели. В фильтрат, отделенный от осадка 1, пропускали ток сухого HCl. Выпавший при этом осадок представлял солянокислую соль эфира гликоколя. Осадок 1 обрабатывали хлороформом на холоду. Выпавший при концентрации хлороформенного фильтрата осадок обрабатывали уксуснометиловым эфиром. Небольшая часть растворилась и при концентрации дала осадок с т. пл. 183°. Большая часть не растворилась и представляла вещество с т. пл. 145° и с кристаллической формой в виде пластинок. По анализам это вещество с т. пл. 145° является амидином. Отрицательные нингидринная и [пикриновая реакция]

Найдено %: C 55,10; H 4,95; N 11,84  
 $C_{22}H_{34}O_{12}N_6$ . Вычислено %: C 55,33; H 4,89; N 12,11  
 Найдено (Раст):  $M = 678,7$   
 Вычислено:  $M = 694$

Для доказательства перегруппировки фталилглициновой группы из экзо-положения азота пиперазинового кольца в экзо-положение азота боковой аминокислоты был поставлен гидролиз этого соединения 1% HCl с ферментом и без фермента. После 2-дневного стояния в термостате в обоих растворах выпал осадок, оказавшийся фталилглицилглицином. Для анализа это вещество перекристаллизовали из воды. Т. пл. 229,5°, кристаллическая форма под микроскопом (иголки), полное отсутствие ангидридной реакции и биуретовой, проведенной как с  $CuCl_2$ , так и с  $Co(NO_3)_2$ , указывают на то, что выделенное нами вещество представляет фталилглицилглицин. Синтетический фталилглицилглицин плавится при 230° и не дает депрессии с полученным выше веществом.

Схема распада амидина в 1% HCl



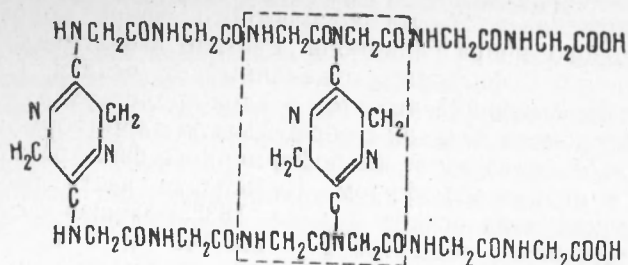
Дикетопиперазина обнаружить не удалось. Присутствие его в этом соединении было доказано по появлению нингидринной реакции в фильтрате после нейтрализации HCl. Этим опытом подтвердилось сделанное ранее предположение о местонахождении фталилглициновой группы у азота боковой цепи.

### Выводы

1. Осуществлен синтез дважды N-аминоацилированного дикетопиперазина при ацилировании хлорангидридами гликоколя с защитой их аминной группы фталил-, толуолсульфо- и бензилсульфо-производными.

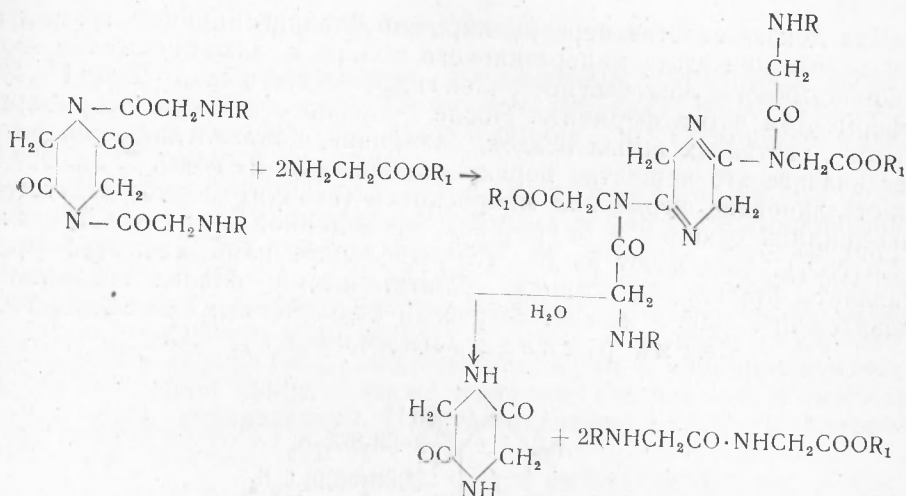
2. Фталилглициновая группа у азота дикетопиперазина обладает свойствами подвижной ацильной группы и с эфиром гликоколя образует экзо-ацил-(фталилглицил)-глициновый амидин дигидропиперазина.

3. Синтезом этого соединения показана возможность структуры выдвинутой Н. И. Гавриловым сложной (пептонной) микромолекулы белка.



Из этой структуры осуществлен центральный фрагмент.

4. N-ациламинные группы легко перегруппировываются в экзоположение, если карбонил замещен аминокислотным остатком, и в дальнейшем могут служить моделью (согласно реакции М. Бергмана, расшифрованной нами<sup>(20)</sup>) синтеза пептидной связи



Поступило  
23 V 1950

# ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- <sup>1</sup> Н. Д. Зелинский и В. С. Садиков, Biochem. Zs., **136**, 241; **137**, 397, 401; **138**, 156 (1923). <sup>2</sup> Н. И. Гаврилов и Н. Д. Зелинский, Вестн. МГУ, № 7 (1947). <sup>3</sup> E. Abderhalden u. H. Mann, Zs. phys. Chem., **169**, 211 (1927); E. Abderhalden u. E. Schwab, *ibid.*, **148**, 256 (1925); **134**, 121 (1924); **139**, 147 (1924). <sup>4</sup> Н. Д. Зелинский и В. С. Садиков, Biochem. Zs., **179**, 326 (1926). <sup>5</sup> E. Abderhalden u. E. Schwab, Ber., **40**, 3544 (1907). <sup>6</sup> M. L. Maillard, Ann. Chim., (9), **2**, 210 (1914). <sup>7</sup> E. Abderhalden u. E. Schwab, Zs. f. phys. Chem., **139**, 169 (1924). <sup>8</sup> E. Abderhalden u. E. Schwab, *ibid.*, **158**, 66 (1926). <sup>9</sup> E. Abderhalden u. E. Schwab, *ibid.*, **158**, 66 (1926). <sup>10</sup> E. Abderhalden u. E. Schwab, *ibid.*, **164**, 271, 274 (1927); **171**, 82 (1927); **212**, 71 (1932). <sup>11</sup> Н. И. Гаврилов и Х. Н. Лерман, ЖОХ, **11**, 127 (1941). <sup>12</sup> E. Abderhalden u. E. Schwab, Zs. f. phys. Chem., **148**, 263 (1925). <sup>13</sup> E. Abderhalden u. E. Klamann, *ibid.*, **129**, 323 (1923); **135**, 199 (1924). <sup>14</sup> M. Bergmann, *ibid.*, **62**, 315 (1909); M. Bergmann u. L. Zervas, *ibid.*, **175**, 145 (1928); M. Bergmann, F. Stern u. Ch. Witte, Lieb. Ann., **449**, 277 (1926); M. Bergmann and J. E. Tietzman, Journ. biol. Chem., **155**, 535 (1944). <sup>15</sup> Л. Н. Акимов, Диссертация, МГУ, 1949. <sup>16</sup> P. Karrer, Ch. Graenacher u. A. Schlosser, Helv. chim. acta, **6**, 1108 (1923). <sup>17</sup> Journ. prakt. Chem., [2], **27**, 418 (1883); Journ. Am. Chem. Soc., **71**, No. 5, 1856 (1949). <sup>18</sup> E. Fischer, Untersuchungen über Aminosäuren, Polypeptide u. Proteine, II, 1907—1919, S. 198. <sup>19</sup> E. Fischer u. M. Bergmann, Ber., **37**, 4101 (1904). <sup>20</sup> Л. Н. Акимов и Н. И. Гаврилов, ДАН, **73**, № 6 (1950).