

Instituto Español de Fisiología y Bioquímica  
Sección de Fisiología General de Valencia

(Jefe: J. García-Blanco)

## Deshalogenación peroxidásica de los derivados cíclicos yodados en posición 3-5

por M. Solsona

(Recibido para publicar el 22 de agosto de 1952)

La posición especial que ocupan en Bioquímica los derivados yodados en posición 3-5, tiroxina y diyodotirosina, nos ha llevado a plantearnos el problema del comportamiento de estos cuerpos ante la acción de una peroxidasa. Así, continuando una norma seguida en otro trabajo (1) en el cual se consigue la oxidación de diferentes fármacos, aprovechando la acción catalizadora que sobre el agua oxigenada ejerce la peroxidasa contenida en la raíz del *Raphanus Sativus*, se ha creído conveniente estudiar la posible liberación del yodo contenido en las moléculas de los anteriores compuestos. También se ha estudiado el comportamiento, ante esta oxidación, de un cuerpo de constitución química semejante, tres derivados de la piridina y dos de la quinoleína.

### Material y métodos

Se han estudiado los siguientes cuerpos de constitución química semejante por la posición del I dentro de la molécula :

Acido  $\beta$  -(4 hidroxí-3,5 diyodo-fenil),  $\alpha$  -amino-propiónico (diiyodotirosina) ;

Acido  $\beta$  -[3,5-diyodo-4-(3',5'-diiyodo 4'-hidroxifenoxi)] fenil-amino-propiónico (tiroxina) ;

Acido  $\beta$  -(4 hidroxí-3,5 diyodo-fenil)  $\alpha$  -fenil-propiónico (D. T. F.).

Los derivados también en posición 3-5 de la piridina :

Sal disódica del ácido 3-5 diyodo 4-piridoxil-N-metil-2,6-dicarboxílico ;

Sal dietanol amínica 3-5 diyodo-4-piridona-N-ácido acético ;  
N-metil-3,5 diyodo quelidamato-disódico.

Y, finalmente, los derivados de la quinoleína :

7 yodo-8-oxiquoleína 5 sulfónico ;

5,7 diyodo-8-hidroxiquinoleína.

Se ha trabajado con disoluciones comprendidas entre M/250 y M/1.000 con los derivados de la quinoleína y piridina. En el caso de la diyodotirosina con disoluciones M/750, M/1.000 y más diluídas ; con la tiroxina y el D. T. F. se han preparado disoluciones saturadas, de concentración ínfima por la insolubilidad de estos compuestos.

En todos los casos, se disponen de cápsulas de Petri en las que colocamos 9 c.c. de una disolución M/10 de fosfato monosódico, para mantener un pH ligeramente ácido, cuatro raíces de *Raphanus Sativus*, germinadas colocando semillas durante cuatro o cinco días en contacto con agua destilada, y 0'1 c.c. de agua oxigenada de 3 volúmenes, valorada por permanganimetría. Como indicador, colocamos dos gotas de engrudo de almidón.

Previamente se determinó la concentración óptima de agua oxigenada. Para ello se preparó una serie de cápsulas de Petri en las condiciones experimentales ya indicadas, con diyodotirosina como derivado yodado, solamente variando la concentración del agua oxigenada, colocando en cada una de ellas cantidades comprendidas entre 0'05 y 0'5 c.c. de H<sub>2</sub> O<sub>2</sub> de 3 v. La reacción de la diyodotirosina se realiza en condiciones óptimas para la concentración de H<sub>2</sub> O<sub>2</sub> de 0'1 c.c. por 10 c.c. de disolución.

## Resultados

Una liberación de yodo, sólo se pone claramente de manifiesto en el caso de la diyodotirosina, en seguida, por la acción peroxidásica, se colorea de azul la solución, debido al compuesto de adición que va formando el I liberado con el engrudo de almidón. Para determinar la sensibilidad de la reacción en este caso, se preparan disoluciones de este compuesto más diluídas que M/1.000, obteniendo con ellas resultados negativos. Teniendo en cuenta que esta solución queda diluída por diez en las condiciones experimentales, el límite de reacción resultará ser de M/10.000.

En el caso de la tiroxina y del D. T. F., la reacción no marcha claramente ; en el cuerpo de la raíz se va desarrollando un color azul que no pasa a la solución.

Con los tres derivados de la piridina y con los dos de la quinoleína no obtenemos resultados positivos, aún trabajando con con-

centraciones superiores de estos compuestos y de agua oxigenada, llegando la de esta última a ser de 0'5 c.c. por 10 c.c. de disolución.

### Discusión

Del estudio de los derivados yodados antes indicados, se observa una fácil deshalogenación en el caso de la diyodotirosina; por el contrario, no se consigue con los derivados de la piridina, aunque el I se encuentra también en posición 3-5. Con la tiroxina y el D. T. F., compuestos de constitución química muy semejante a la diyodotirosina, se consigue una liberación de yodo en pequeña cantidad, que se fija en la raíz, ya que se colorea de azul únicamente en presencia del engrudo de almidón, sin que tome este color el líquido ambiente.

En el caso del D. T. F., cuya constitución química difiere de la diyodotirosina en la sustitución del grupo  $\text{NH}_2$  de ésta por el  $\text{C}_6\text{H}_5$ , se obtiene un resultado muy característico cuando se preparan mezclas de estos dos cuerpos en diferentes proporciones y se las somete a la acción peroxidásica indicada; entonces no se obtiene una coloración azul en la masa líquida, como cabía esperar como consecuencia de la liberación de I de la diyodotirosina, sino que todo el cuerpo de la raíz toma un color azul muy intenso. Parece como si la acción peroxidásica se ejerciera solamente en el cuerpo de la raíz y que el I liberado se fuera fijando en ella, al mismo tiempo que la peroxidasa que se va difundiendo en el líquido la fuera bloqueando el D. T. F. inhibiendo su acción.

La presencia de la tiroxina, por lo menos en las concentraciones tan diluídas de ella con que trabajamos, parece no ejercer una influencia apreciable en la reacción de la diyodotirosina, pues si preparamos una disolución de estos dos cuerpos y la sometemos a la acción peroxidásica, obtenemos una reacción sensiblemente igual en intensidad y velocidad a la que da la diyodotirosina sola. En la reacción de este último compuesto, tampoco parece influir la presencia de los derivados de la piridina cuando éstos se encuentran en concentración inferior a M/500, cuando ésta es mayor, la influencia se pone de manifiesto entorpeciendo la velocidad de reacción y la intensidad de la misma.

Los dos derivados de la quinoleína estudiados dan, como hemos indicado, reacción negativa; su presencia, aún en ínfimas cantidades, basta para impedir la reacción de la diyodotirosina. En el caso del 7, yodo-8 oxiquinolein-5-sulfónico se pensó estudiar si la inhibición la provocaba la presencia del grupo sulfónico, o era propia del anillo de la quinoleína. Para ello, se preparó una disolución de diyodotirosina y de la sal sódica del ácido naftoquinon-sulfónico, de color amarillo por la presencia de este último com-

puesto, al colocarla en las condiciones experimentales ya indicadas, este color amarillo se fué transformando en otro verde azulado por el azul que se iba desarrollando con la liberación de I. Para ver la influencia del anillo quinoleína, preparamos una disolución de diyodotirosina con indicios de hidroxiquinoleína, obteniéndose resultados negativos. La hidroxiquinoleína y los dos derivados yodados de este mismo anillo estudiados ejercen una inhibición de la reacción, o van eliminando el I a medida que se va liberando, ya que si a la reacción positiva de la diyodotirosina añadimos indicios de los compuestos antes indicados, desaparece el color azul, debido al I presente.

### Resumen

Se estudia la acción de la peroxidasa de la raíz del *Raphanus Sativus*, en presencia de agua oxigenada, sobre derivados yodados en posición 3-5 en el anillo bencénico y piridínico:

Acido  $\beta$  -(4 hidroxí-3,5-diiodo-fenil),  $\alpha$  -amino-propiónico (diiodotirosina).

Acido  $\beta$  [3,5-diiodo-4-(3',5' diiodo-4'hidroxifenoxi)] fenil- $\alpha$  amino-propiónico (tiroxina).

Acido  $\beta$  (4 hidroxí-3,5 diiodo-fenil),  $\alpha$  fenil-propiónico (D.T.F.).

Sal disódica del ácido 3,5 diiodo 4-piridoxil-N-metil-2,6 dicarboxílico.

Sal dietanolamínica 3,5 diiodo 4-piridona-N-ácido acético.

N-metil-3,5 diiodo-quelidamato disódico.

así como con los derivados de la quinoleína

7, iodo-8-oxiquinolein-5 sulfónico.

5,7 diiodo-8-hidroxiquinoleína.

De todos estos compuestos, únicamente se consigue una deshalogenación en el caso de la diyodotirosina, puesta de manifiesto por el color azul que toma el líquido ambiente al añadir dos gotas de engrudo de almidón.

La tiroxina y el D.T.F. nos dan una reacción positiva sólo en el cuerpo de la raíz. Los restantes derivados yodados estudiados nos dan todos reacción negativa.

Se determina el límite de sensibilidad de la reacción de la diyodotirosina, siendo éste de  $\frac{M}{10.000}$

### Summary

A study is being made of the action of peroxidase of the root of *Raphanus Sativus* in the presence of hydrogen peroxide on different iodized derivatives of phenyl, pyridin and chinoleine cycles.

Of all the compounds studied, it was only possible in diiodo-thyrosine to obtain deshalogenation this being evidenced by the blue colour of the liquid when two drops of starch suspension were added.

On Thyroxine and D. T. F. a positive reaction was obtained only

when using the main part of the root. On the remaining derivatives studied the reaction was also always negative.

The limit of sensibility in the reaction on diiodthyrosine was determined same being  $\frac{M}{10.000}$ .

### Bibliografía

- (1) SOLSONA, M. Y MORA, A. : *R. esp. Fisiol.*, **7**, 221, 224, 1951.