

УДК 541,64+678.675

ПОЛИКОНДЕНСАЦИЯ АМИДОВ α -АМИНОКИСЛОТ*B. B. Коршак, С. В. Рогожин, Р. Д. Каюмов*

Из производных α -аминоокислот, используемых для синтеза полипептидов, наиболее хорошо изучена поликонденсация различных эфиров и N-карботиофефенилпроизводных аминокислот [1]. Значительно меньшее внимание было уделено амидам аминокислот, о поликонденсации которых опубликованы до сих пор только работы Оро и Гудри [2, 3], где авторы показали, что при нагревании амидов наблюдается образование полипептидов с невысоким молекулярным весом.

Хорошая растворимость в большом числе органических растворителей, легкость очистки и сравнительная доступность [4] делают амиды аминокислот интересными исходными соединениями для синтеза пептидов.

С целью выяснения возможности получения полипептидов поликонденсацией амидов аминокислот нами было изучено влияние различных факторов на поликонденсацию амидов глицина, аланина, валина, лейцина и норлейцина в расплаве и растворе.

В случае глициламида было найдено, что в инертной атмосфере при достижении 70—80° начинается конденсация амida с выделением аммиака. Скорость реакции, о которой удобно судить по скорости выделения аммиака, быстро увеличивается с повышением температуры реакционной смеси, однако выше 150° наблюдается заметное разложение, так как выход аммиака в этом случае резко возрастает и превышает теоретически возможное количество. Вероятно, это происходит в результате дезаминирования образующегося продукта. На рис. 1 приведена зависимость количества выделяющегося аммиака от времени при разных температурах.

Как видно из рисунка, степень завершенности реакции, к сожалению, не превышает 80—85%, что обусловливается высокими температурами плавления продуктов реакции. В результате этого реакционная масса из расплава довольно быстро, при небольшой степени завершенности реакции, переходит в твердое состояние, что приводит к резкому замедлению скорости реакции и получению сравнительно низкомолекулярных полипептидов.

Средне-числовой молекулярный вес полученных полипептидов после отделения низкомолекулярных продуктов реакции оказался равным 400—600 (потенциометрическое титрование концевых NH₂-групп). При фракционном осаждении полипептида метанолом из раствора в 60%-ном водном растворе LiBr было выделено четыре фракции: 1) 17% с $M_n = 8000$; 2) 19,4% с $M_n = 1350$; 3) 23,7% с $M_n = 700$ и 4) 5% с $M_n = 550$. Кроме полиглициламида, в реакционной массе было найдено от 10 до 14% дикетопиперазина и небольшое количество олигопептидов, удаляемых из смеси длительной экстракцией водой.

В случае поликонденсации амидов других аминокислот также наблюдается выделение аммиака и образование циклических дикетопиперазинов

и линейных полипептидов. Однако реакция при этом начинается при более высоких температурах ($140-150^\circ$) и, в отличие от поликонденсации глициламида, образуется значительно большее количество дикетопиперазинов (таблица).

Таким образом, во всех случаях поликонденсации амидов аминокислот в расплаве реакция останавливается на сравнительно низких степенях завершенности, так как продукты реакции нерастворимы и неплавки. Од-

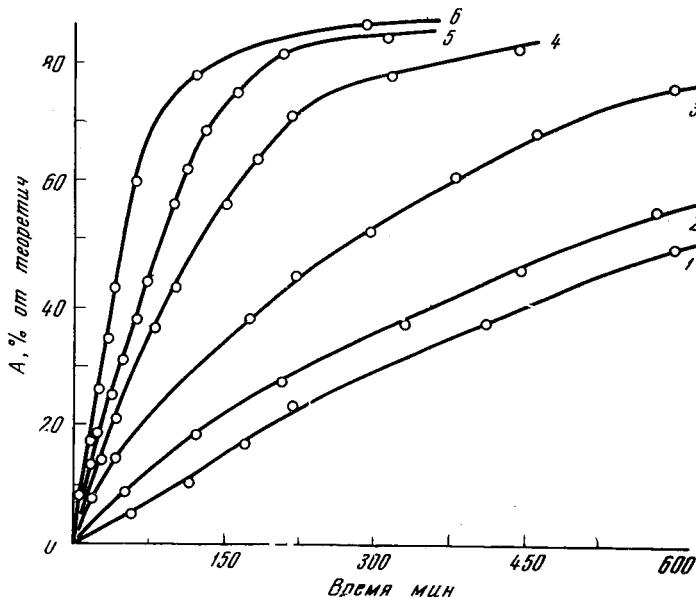


Рис. 1. Зависимость количества выделившегося аммиака (A) от времени при разных температурах:
1 — 90° , 2 — 100° , 3 — 110° , 4 — 120° , 5 — 130° , 6 — 140°

нако выделение из полученного полиглициламида фракции с молекулярным весом 8000 указывает на принципиальную возможность получения высокомолекулярных полипептидов поликонденсацией амидов аминокислот, если бы было возможным проведение этой реакции в гомогенных условиях в расплаве или растворе.

Выход циклических продуктов при поликонденсации амидов α -аминокислот

| Условия и результаты | Аланиламид | | Лейциламид | | | Норлейциламид | | |
|----------------------------------|------------|------|------------|------|-------|---------------|------|-----|
| Температура, $^\circ\text{C}$ | 160 | 170 | 160 | 170 | 180 | 150 | 160 | 170 |
| Время, часы | 25 | 20 | 12 | 20 | 20 | 19 | 23 | 21 |
| Выход дикетопиперазина, % | 80,4 | 81,7 | 73,5 | 77,7 | 80,20 | 76,0 | 78,0 | 82 |
| Степень завершенности реакции, % | 80,4 | 95,5 | 60 | 94,7 | 94,95 | 88,4 | 92,5 | — |

Применение различных растворителей (воды, водного раствора гидроокиси аммония, глицерина, нитробензола, крезола и т. п.), к сожалению, не меняет характера процесса. И в этом случае наблюдается выделение из раствора продуктов реакции уже при небольших степенях ее завершенности. В случае крезола при поликонденсации глициламида полученный полипептид имел молекулярный вес ~ 1500 . В других случаях молекулярные веса не превышали значений, полученных при поликон-

денсации в расплаве. Несомненно, требуется дальнейшая работа по подбору оптимальных условий и среды для проведения реакции.

Как видно из таблицы, количество образующегося линейного полипептида при поликонденсации амидов относительно невелико. Только при поликонденсации глициламида выход полипептида превышает 80%. Это, вероятно, объясняется тем, что, как известно, стабильность дикетопиперазинового цикла резко увеличивается при введении в него двух

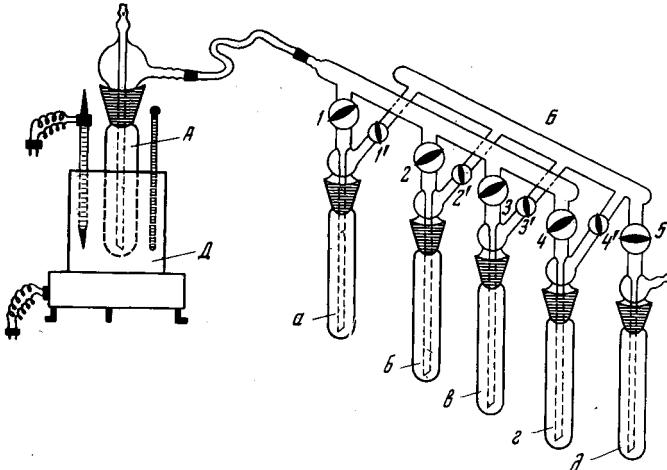


Рис. 2. Прибор для непрерывного измерения аммиака
Объяснения см. в тексте

С-алкильных заместителей. Так, сам пищеразин-2,5-дион термодинамически менее устойчив, чем полиглицин, и сравнительно легко превращается в полипептид в различных условиях [5], в том числе и при нагревании с водой. Однако попытки получить полипептиды гидролитической полимеризацией 3,6-диалкил- и 3,6-дифенилпищеразин-2,5-дионов не увенчались успехом. Получены также отрицательные результаты при анионной полимеризации 3,6-диметилпищеразин-2,5-диона с применением в качестве катализаторов металлического натрия, гидрида натрия и ацетил-капролактама [6].

Вероятно, и в условиях поликонденсации амидов аминокислот пищеразин-2,5-дион в противоположность другим дикетопищеразинам участвует дальше в реакции, что и приводит к значительно более высоким выходам линейных полипептидов при поликонденсации глициламида.

Экспериментальная часть

Исходные амиды были получены по методам Бергеля и Вулфинга [7] (глициламид, т. пл. 65—66°), Фишера [8] (аланиламид, т. пл. 62—63°), Смита, Спешмана и Полглаза [9] (валиламид, т. пл. 78—80°), Эмиля и Смита [10] (норлейциламид и лейциламид). Для окончательной очистки все амиды были перекристаллизованы дважды в среде, не содержащей углекислоты.

Поликонденсацию проводили в конденсационной пробирке, показанной на рис. 2. Измерение выделившегося аммиака производили в специальном приборе *B*.

Определенную навеску загружали в конденсационную пробирку *A* и опускали в силиконовую баню *D*, заранее нагретую до определенной температуры. Температуру поддерживали с точностью $\pm 0,5^\circ$. Измерение производили при закрытых кранах 2, 3, 3', 4, 4' и при открытых кранах 1, 1' и 5. Пробирки *a*—*d* заполняли определенным количеством 0,1 н. H_2SO_4 с 1—2 каплями спиртового раствора метилоранж. При переходе малиновой окраски в желтую пробирку отключали (закрывая краны 1, 1' и открывая краны 2, 2'). Отмечали время и количество 0,1 нч H_2SO_4 израсходованной на нейтрализацию аммиака.

Выделяющийся аммиак вытесняли из реакционной среды сухим азотом, очищенным от кислорода. После завершения реакции полимер из конденсационной пробирки переносили в агатовую ступку и измельчали. Выход циклического димера опре-

деляли по описанному методу [11] возгонкой в тонком слое в вакууме 10^{-3} мм при 140° в течение 15—25 мин. в зависимости от характера строения циклического димера.

После определения пиперазин-2,5-диона в отдельной навеске основную массу продукта экстрагировали горячим метанолом в течение 8 час. Контрольным опытом показано, что при подобной обработке происходит полное удаление пиперазин-2,5-диона и других низкомолекулярных примесей из полученной реакционной смеси. Для характеристики полиглициламида определяли его растворимость в воде, среднечисловой молекулярный вес по концевым аминогруппам и молекулярновесовое распределение.

Выводы

1. Изучено влияние температуры на скорость реакции поликонденсации амидов α -аминокислот. Установлено, что с повышением температуры скорость реакции возрастает.

2. Выяснено, что при поликонденсации глицил-, аланил-, валил-, норлейцил- и лейциламидов в расплаве одновременно с линейными полипептидами образуются и циклические димеры.

Институт элементоорганических
соединений АН СССР

Поступила в редакцию
28 VI 1965

ЛИТЕРАТУРА

1. F. Noguchi, Nippon Kagaku Zasshi, 74, 961, 1953; Chem. Abstrs, 52, 261, 1958.
2. F. Oro, C. L. Guidry, Nature, 186, 156, 1960.
3. C. L. Guidry, Dissert. Abstrs, 21, 1188, 1962.
4. F. Kovacs, H. Nagy, Nature, 190, 531, 1961.
5. A. Meggy, J. Chem. Soc., 1956, 1444.
6. K. Hall, J. Amer. Chem. Soc., 80, 6404, 1958.
7. P. Bergell, H. Wülfing, Z. Physiol. Chem., 64, 354, 1960.
8. E. Fischer, Ber., 40, 491, 1907; 39, 462, 1906.
9. E. Smith, E. L. Spaethman, D. H. Polglase, J. Biol. Chem., 199, 801, 1952.
10. L. Emil, E. Smith, W. J. Polglase, J. Biol. Chem., 180, 1209, 1949.
11. K. Kemf, J. Prakt. Chem., 78, 243, 1908.

POLYCONDENSATION OF AMIDES OF α -AMINOACIDS

V. V. Korshak, S. V. Rogozhin, R. D. Kayumov

S u m m a r y

Polypeptides were synthesized by polycondensation of amides of α -aminoacids. Together with linear polypeptides cyclic dimers-diketopiperazines are formed at the reaction.