

Technische Fakultät der Universität Osaka, Suita, Japan

Kurzmitteilung

Funktionelle Monomere und Polymere, 16*)

Zur Synthese von Polypeptiden mit Purin- oder Pyrimidinbasen-Resten

KIICHI TAKEMOTO, HIDEYUKI TAHARA, AKIRA YAMADA, YOSHIAKI INAKI,
and NASUO UEDA

(Eingegangen am 18 April 1973)

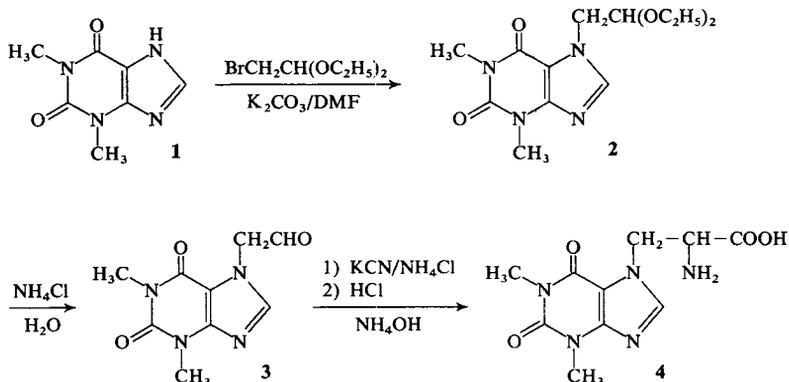
Über die Synthese von Nucleinbasenreste enthaltenden α -Aminosäuren findet man in der Literatur einige Mitteilungen. Bislang sind die Synthesen von D,L-Willardiin^{1,2}), Adenin-, Thymin- und Cytosinreste enthaltenden Alaninen³) und einigen Aminosäureestern mit Purinbasenresten⁴) untersucht worden. Im Anschluß an unsere Untersuchungen über die Synthese und die Polymerisation von Monomeren, die Nucleinbasenreste enthalten^{5,6}), erschien es uns interessant, die bisher noch unbekanntenen Aminosäure-N-carbonsäureanhydride (Aminosäure-NCA), die Purin- sowie Pyrimidinbasenreste enthalten, aus den entsprechenden Aminosäuren darzustellen.

In dieser Mitteilung beschreiben wir die Synthese der Aminosäure-NCAs mit Theophyllin- und Uracilresten sowie Versuche zur Darstellung der Polypeptide durch Ringöffnungspolymerisation der auf diesem Wege gewonnenen Aminosäure-NCAs.

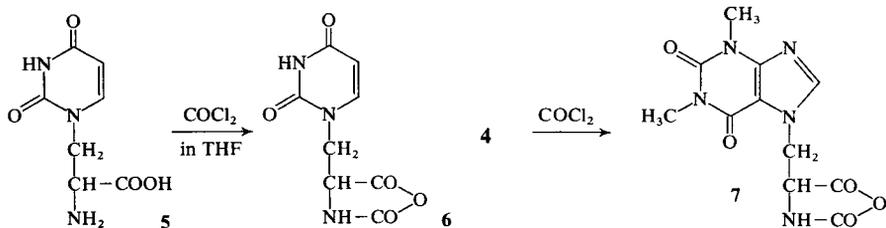
Darstellung der N-Carboxy-aminosäureanhydride

Die hier in Frage kommende Aminosäure, DL- β -(7-Theophyllinyl)-alanin (4), wurde, ähnlich wie andere Aminosäurederivate, auf dem im Formelschema skizzierten Wege aus Theophyllin (1) erhalten. Diese neue Aminosäure bildet wie die uracilhaltige Aminosäure farblose Nadeln und ist in fast allen organischen Lösungsmitteln unlöslich, in Dimethylformamid und Dimethylsulfoxid ziemlich schwer löslich. IR-Spektren sowie Elementaranalyse bestätigen die Konstitution.

*) 15. Mitt.: K. KONDO, T. FUJITA, K. TAKEMOTO, Makromol. Chem., im Druck.



Die Aminosäuren mit Theophyllinresten (4) und Uracilresten, DL- β -(2,4-Dioxo-1-pyrimidinyl)alanin (5), konnten ferner nach der Methode von Fuchs⁷⁾ in Aminosäure-NCA übergeführt werden: DL-N-Carboxy- β -(7-theophyllinyl)alaninanhydrid (7) und DL-N-Carboxy- β -(2,4-dioxo-1-pyrimidinyl)alaninanhydrid (6) wurden aus 4 bzw. 5 und Phosgen in Dioxan oder Tetrahydrofuran-Suspension bei Raumtemperatur dargestellt und durch Umkristallisation als farblose Kristalle erhalten.



Polymerisation der N-Carboxy-aminosäureanhydride

Die N-Carboxy-aminosäureanhydride 6 und 7 lassen sich unter Zusatz katalytischer Mengen *prim.*, *sec.* oder *tert.* Amines polymerisieren. Die Ergebnisse sind in Tab. 1 zusammengestellt. Die Produkte sind farblose Pulver, enthalten nicht mehr die Anhydridgruppe, sind in Wasser schwer löslich, in Dimethylformamid und Dimethylsulfoxid aber leicht löslich. Aus der Messung der rel. mol. Masse durch Dampfdruckosmometrie und aus der Elementaranalyse ergab es sich, daß die Produkte oligomer sind vom Polymerisationsgrad 4 oder 5.

Synthese von Polypeptiden mit Purin- oder Pyrimidinbasen-Resten

Tab. 1. Polymerisation von *N*-Carboxy-aminosäureanhydriden ^{a)}

| Monomer | Initiator | % Umsatz ^{b)} | <i>M</i> ^{c)} | \bar{P}_n |
|-----------------|---|------------------------|------------------------|-------------------|
| 7 | (C ₄ H ₉) ₃ N | 29 | 460 | 1,8 |
| | (C ₂ H ₅) ₃ N | 31 | 1 400 | 5,6 |
| 6 | C ₄ H ₉ NH ₂ | 97 | 840 | 4,6 ^{d)} |
| | C ₄ H ₉ NH ₂ ^{e)} | 94 | 920 | 5,1 |
| | (C ₄ H ₉) ₂ NH | 87 | 900 | 5,0 |
| | (C ₄ H ₉) ₃ N | 90 | 920 | 5,1 |
| 6 ^{f)} | C ₄ H ₉ NH ₂ | 37 | 960 | — |

a) 45 h in DMF bei Raumtemp.; [Initiator]/[Monomere] = 1/10 (mol/mol).

b) Gravimetrisch bestimmt.

c) In DMF-Lösung dampfdruckosmetrisch bestimmt.

d) $[\eta]$ (in DMF, bei 15 °C) = 0,06 cm³/g.

e) Lösungsmittel: DMF/Acetonitril (1:1).

f) Copolymerisation mit L- γ -Benzyl-*N*-carboxy-glutaminsäure (Mengenverhältnis 1:1).

Beim Versuch, nucleinbasenhaltige Polypeptide durch Polykondensation der entsprechenden Aminosäuren ⁸⁾ mit Polyphosphorsäure bei 150–160 °C darzustellen, entstanden jedoch wiederum Oligomere. Aus uracil- und adeninhaltigen Aminosäuren wurden Produkte isoliert, die keine Amidabsorption aufwiesen. Nur bei der Aminosäure, die einen Theophyllinrest enthält, zeigte das Produkt die typischen Absorptionen der Polymere aus dem entsprechenden Aminosäure-NCA.

Synthesen anderer purin- und pyrimidinbasenhaltiger Aminosäure-NCA und Versuche zur Gewinnung von Polypeptiden mit höherem Molekulargewicht sind im Gange.

Experimenteller Teil

7-(2',2'-Diäthoxyäthyl)theophyllin (**2**): 9,90 g (49,9 mmol) Theophyllinmonohydrat, 9,90 g (50,2 mmol) 1,1-Diäthoxy-2-bromäthan und 7,0 g wasserfreies Kaliumcarbonat werden in 150 cm³ DMF 19 h bei 100 °C gerührt. Der Niederschlag wird abfiltriert, das Filtrat eingengt und der Rückstand aus Methanol umkristallisiert. Farblose Nadeln; Schmp. 125 bis 126 °C. Ausb.: 9,4 g (64 %).

C₁₃H₂₀N₄O₄ (296,3) Gef. C 52,61 H 6,78 N 18,87
Ber. C 52,70 H 6,76 N 18,92

IR (KBr): 2900, 1000 – 1100 cm⁻¹ (Acetal).

UV: 273 (ϵ = 23800) und 231 nm.

7-(Formylmethyl)theophyllin (**3**): 6,00 g (20,2 mmol) **2** werden in 50 cm³ Wasser mit Ammoniumchlorid 5 h zum Sieden erhitzt. Das Wasser wird unter vermindertem Druck

abdestilliert, ca. 50 cm³ Methanol zugegeben und der Niederschlag abfiltriert. Das Filtrat engt man ein und kristallisiert das so erhaltene Rohprodukt aus Acetonitril um. Farblose Nadeln; Schmp. 144 – 146°C. Ausb.: 2,0 g (40%).

C₉H₁₀N₄O₃ · H₂O (240,2) Gef. C 45,05 H 4,93 N 23,85
Ber. C 45,01 H 5,04 N 23,33

IR (KBr): 2700 (C–H des Aldehyds) und 1700 cm⁻¹ (C=O des Aldehyds).
UV (Wasser): 273 (ε = 9000) und 231 nm.

DL-β-(7-*Theophyllinyl*)alanin (4): 2,0 g (8,3 mmol) **3**, 1,8 cm³ 28proz. Ammoniak, 0,8 g Ammoniumchlorid und 0,9 g Kaliumcyanid werden in 10 cm³ Wasser 5 h bei 60°C erhitzt. Danach wird 25 cm³ Salzsäure (c = 10 mol/dm³) zugegeben, 1 h weitererhitzt und 1 Tag stehengelassen. Die Lösung wird nach Einengen weiter mit 15 cm³ Salzsäure (c = 10 mol/dm³) 3 h zum Sieden erhitzt und wieder eingengt. Zum Reaktionsgemisch fügt man Ammoniakwasser (c = 1 mol/dm³) vom pH-Wert 4 und ca. 20 cm³ Äthanol zu. Der Niederschlag wird wieder in Ammoniak gelöst und mit Aktivkohle behandelt. Das Produkt wird bei pH 4 als farblose Nadeln gewonnen und färbt sich violettrot beim Nihydrintest (Schmp. 229 bis 230°C); Ausb.: 1,4 g (64%).

C₁₀H₁₃N₅O₄ · H₂O (267,3) Gef. C 42,14 H 5,33 N 25,02
Ber. C 42,16 H 5,30 N 24,55

IR (KBr): 3400 (NH), 2600–3000 (NH₃⁺) und 1600 cm⁻¹ (COO⁻).
UV (Wasser): 283 (ε = 8000) (H⁺), 273 (6700) (OH⁻) und 231 nm.

DL-*N*-Carboxy-β-(7)-*theophyllinalaninanhydrid* (7) und *Oligomere*: 0,20 g (0,74 mmol) **4** werden in 30 cm³ Dioxan suspendiert, und bei 40–50°C während 4 h unter Rühren wird überschüssiges Phosgen eingeleitet. Nach Vertreiben von nicht verbrauchtem Phosgen durch Einleiten von Stickstoff wird die Lösung unterhalb 50°C i. Vak. eingengt. Das Rohprodukt wird aus Acetonitril umkristallisiert.

Farblose Kristalle; Schmp. 234–237°C. Ausb.: 90%.

C₁₁H₁₁N₅O₅ (293,2) Gef. C 45,29 H 3,61 N 23,98
Ber. C 45,05 H 3,78 N 23,88

IR (KBr): 1850, 1770 (C=O) und 910 cm⁻¹ (C=O, beide von der Säureanhydridgruppe).
UV (Dioxan): 277 nm.

100 mg **7** werden in 15 cm³ DMF gelöst und nach Zutropfen von 2,5 · 10⁻² cm³ (0,1 mol) Triäthylamin 45 h bei Raumtemp. gerührt. Danach wird in viel Äther eingegossen und das Rohprodukt durch Umfällen gereinigt. Das erhaltene Oligomere des Aminosäure-NCA ist ein hellgelbes Pulver vom Schmp. 168–172°C.

Ausb.: 26 mg (31% ber. auf **7**). *M* (Dampfdruckosmometer): 1400.

IR (KBr): 3400 (NH), 1640 (C=O) und 1500 cm⁻¹ (NH). UV (H₂O): 273 nm.

DL-*N*-Carboxy-β-(2,4-dioxo-1-pyrimidinyl)alaninanhydrid (6) und *Oligomere*: Die α-Aminosäure **5**^{1,2)} wird, wie oben bei **4** beschrieben, mit Phosgen umgesetzt. Das Rohprodukt wird aus Äthylacetat umkristallisiert.

Farblose Nadeln; Schmp. 249–251°C. Ausb.: 64%.

C₈H₇N₃O₅ (225,2) Gef. C 42,52 H 3,19 N 18,49
Ber. C 42,67 H 3,13 N 18,66

IR (KBr): 1840, 1760 (C=O) und 930 cm⁻¹ (C=O von der Säureanhydridgruppe).
UV (Dioxan): 262 nm.

Synthese von Polypeptiden mit Purin- oder Pyrimidinbasen-Resten

Die mit verschiedenen Aminen katalysierte Oligomerisation gibt nach Umfällen farblose Pulver.

IR (KBr): 3400 (NH), 1680 (C=O) und 1540 cm^{-1} (NH).

UV (H_2O): 263 ($\epsilon = 16400$) und 264 nm (16000) (OH^-).

Polykondensation der nucleinbasenhaltigen Aminosäuren: Ähnlich wie früher⁸⁾ wird die Aminosäure (1 mmol) mit 30 g Polyphosphorsäure bei 150–160 °C unter Rühren umgesetzt. Nach ca. 1 h wird das Reaktionsgemisch in 100 cm^3 Wasser eingegossen und 1 Tag stehen gelassen. Das System wird dann mit 28 proz. Ammoniakwasser neutralisiert und nach Vertreiben von Wasser das Produkt mit DMF extrahiert. Nach Umfällen betrug die Ausb. bei den adenin-, uracil- und theophyllinhaltenen Aminosäuren 62, 13 und 44 %

- 1) J. H. DEWAR, G. SHAW, J. Chem. Soc. **1962**, 583.
- 2) A. P. MARTINEZ, W. W. LEE, J. Org. Chem. **30**, 317 (1965).
- 3) M. T. DOEL, A. S. JONES, N. TAYLOR, Tetrahedron Letters **1969**, 2285.
- 4) K. KONDO, Y. MURATA, K. TAKEMOTO, Techn. Repts. Osaka Univ. **22**, 785 (1972).
- 5) M. IMOTO, K. TAKEMOTO, Synthesis **1970**, 173.
- 6) K. TAKEMOTO, J. Macromol. Sci. Part C, **5**, 29 (1970).
- 7) F. FUCHS, Chem. Ber. **55**, 2943 (1922).
- 8) M. IMOTO, T. TODA, K. TAKEMOTO, Makromol. Chem. **85**, 173 (1965).