

**POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA**



**URZĄD
PATENTOWY
PRL**

OPIS PATENTOWY

64 436

Patent dodatkowy do patentu

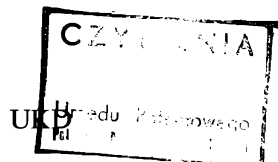
K1. 12 q, 6/01

Zgłoszono: 04.X.1967 (P 122 862)

Pierwszeństwo:

MKP C 07 c, 101/48

Opublikowano: 29.II.1972



Współtwórcy wynalazku: Barbara Rzeszotarska, Grzegorz Pałka

Właściciel patentu: Tarchomińskie Zakłady Farmaceutyczne „Polfarm”, Warszawa
Warszawa (Polska)

Sposób wytwarzania aralkiloksykarbonylo-aminokwasów lub ich estrów

1

Przedmiotem wynalazku jest wytwarzanie aralkiloksykarbonyloaminokwasów lub ich estrów.

W syntezach peptydów grupę aminową aminokwasu lub peptydu acylującego chroni się bardzo często za pomocą osłon aralkiloksykarbonylowych. Spośród tych osłon najczęściej stosowaną jest osłona benzylloksykarbonylowa zwana osłoną karbobenzoksy.

Najstarszym, i do tej pory najczęściej stosowanym, sposobem wprowadzania tej ochrony jest działanie na aminokwas chloromrówczanem benzylu (chlorkiem karbobenzoksy) w środowisku silnie alkalicznym. Wadą tej metody jest niemożność uzyskania chloromrówczanu benzylu w stanie czystym, jego nietrwałość i silnie łażące własności. Silnie alkaliczne środowisko, którego wymaga powyższa reakcja Schotten-Baumana również nie zawsze jest korzystne.

W poszukiwaniu lepszych sposobów wykorzystano ostatnio do wytwarzania karbobenzoksy-aminokwasów metody stosowane w chemii peptydów do syntezy związków peptydowych, a mianowicie wykorzystano tu zdolność ulegania łatwej aminolizie estrów 4-nitrofenylo-*N*-piperydylowych i *N*-sukcynimidylowych.

W celu otrzymania karbobenzoksy-aminokwasów działano na sole lub estry aminokwasów mieszanymi węglanami, takimi jak węglan benzylo-4-nitrofenylo-
wy, benzylo-*N*-piperydylowy i benzylo-*N*-sukcynimidylowy. Zastosowanie wymienionych węglanów omija wprawdzie niedogodności użycia chlorku karbobenzoksy, ale posiada inne wady. Przy użyciu węglanu benzylo-
4-nitrofenylo-
wego tworzy się trudny do oddzielenia

2

od karbобенzoksy-aminokwasu 4-nitrofenol. Zastosowanie węglanu benzyloвого N-piperydylowego wymaga bardzo długiego czasu reakcji, a węglanu benzyloвого-N-sukcynimidylowego drastycznych warunków reakcji i jest poza tym kosztowne.

Okazało się, że można do otrzymywania karbobenzoksy- i innych aralkiloksykarbonylo-aminokwasów wykorzystać zdolność ulegania łatwej aminolizie estrów 8-chinolilowych, stosowanych do syntezy wiązań peptydowych, przy czym użycie węglanów aralkilo-8-chinolilowych do syntezy aralkiloksykarbonylo-aminokwasów omija wady stosowania do tego celu powyżej wymienionych węglanów.

Węgłany aralkilowo-8-chinolilowe są łatwo dostępnymi stałymi, trwałymi związkami o ostrej temperaturze topnienia. Wprowadzanie za ich pomocą osłon aralkiloksykarbonylowych następuje szybko i w bardzo łagodnych warunkach. Praktycznie reakcja jest już skończona po upływie 0,5 godziny w temperaturze pokojowej. Powstała w wyniku reakcji jako produkt uboczny 8-hydroksychinolinę można ze względu na jej własności zasadowe bardzo łatwo oddzielić od aralkiloksykarbonyloaminokwasu.

Sposobem według wynalazku węglan aralkilo-8-chinililowy rozpuszcza się w dwumetyloformamidzie i wstrząsa z wodnym roztworem soli sodowej, potasowej lub trójjalkiloaminowej aminokwasu. Po kilku minutach następuje ujednolicenie roztworu. Tak otrzymany roztwór pozostawia się przez 0,5 godziny w temperaturze pokojowej. Po tym okresie czasu dodaje się wody i wyekstra-

howuje nieprzereagowany węglan aralkilo-8-chinolilowy i utworzoną w reakcji 8-hydroksychinolinę za pomocą rozpuszczalnika nie mieszającego się z wodą, np. octanem etylu.

Warstwę wodną zakwasza się stężonym kwasem solnym i przeprowadza ekstrakcję aralkiloksykarbonyloaminokwasu do octanu etylu. Po odparowaniu octanu etylu otrzymuje się surowe produkty o zadawalającym stopniu czystości i w wysokiej wydajności. W przypadku wprowadzenia ochrony aralkiloksykarbonylowej do estrów aminokwasów reakcję prowadzi się tylko w dwumetyloformamidzie, a po skończonej reakcji dodaje się octanu etylu i wymywa nieprzereagowany węglan aralkilo-8-chinolilowy i utworzoną w reakcji 8-hydroksychinolinę za pomocą 2n kwasu solnego, a octan etylu suszy i odparowuje. Otrzymuje się estry aralkiloksykarbonyloaminokwasów w wysokiej wydajności i o zadawalającym stopniu czystości.

Niektóre spośród otrzymanych według wynalazku aralkiloksykarbonyloaminokwasów i ich estrów są podane w tablicy.

Tablica

Karbobenzoksy- i p-nitrokarbobenzoksy- aminokwasy

Lp.	Karbobenzoksy- i p-nitrokarbobenzoksy- amino-kwasy	Wydajność %	Temperatura topnienia	
			otrzymana °C	literaturowa °C
1.	Z-DL-Ala-OH*)	83	110-111**)	114-115
2.	Z-Gly-OH	90	116-118	120
3.	Z-L-Cys(SBZL)-OH	91	91,5-94	93-94
4.	Z-DL-Phe-OH	99	99-101	103
5.	Z-L-Val-OH	86	57-58,5	57-59
6.	Z-L-Pro-OH	80	73,5-75,5	77
7.	Z-DL-Leu-OH	91	olej***)	olej
8.	Z-DL-Glu(OH)-OH	72	110	120
9.	H-L-Lys(Z)-OH	33****)	240	238
			(rozkład)	(rozkład)
10.	Z-L-Phe-OBu	92	77-99	81-82
11.	p-NO ₂ -Z-Gly	98	119-122	122,5-124
12.	p-NO ₂ -Z-DL-Ala-OH	84	128-129	132,5-134

*) wyjaśnienie używanych w tablicy symboli

**) wszystkie otrzymane sposobem według wynalazku i wymienione w tablicy związki nie dają depresji temperatury topnienia z autentycznymi związkami opisanymi w literaturze

***) N obliczono 5,27%

N znaleziono 5,14%

****) wydajność podana w literaturze około 40%.

Wyjaśnienie używanych w tablicy symboli:

Z	— karbobenzoksy
p-NO ₂ -Z	— p-nitrokarbobenzoksy
BZL	— benzyl
OBu	— ester III-rzędowy butylowy
Ala	— reszta alaniny
Gly	— reszta glicyny
Cys	— reszta cysteiny
Phe	— reszta fenyloalaniny

Val	— reszta waliny
Pro	— reszta proliny
Leu	— reszta leucyny
Glu	— reszta kwasu glutaminowego
Lys	— reszta lizyny

Przykład I. 45 mg 0,5 mM/DL-alaniny rozpuszczono w 0,5 ml 1n NaOH (0,5 mM) i dodano 243 mg (0,75 mM) węglanu p-nitrobenzylowo-8-chinolilowego rozpuszczonego w dwumetyloformamidzie. Po zmieszaniu roztworów i wstrząśnięciu odstawiono jednorodną mieszaninę na 0,5 godziny w temperaturze pokojowej. Po upływie tego czasu do mieszaniny poreakcyjnej dodano 5 ml wody i wymywano octanem etylu nieprzereagowany węglan p-nitrobenzylowo-8-chinolilowy jak również powstającą podczas reakcji 8-hydroksychinolinę. Z warstwy wodnej, po wykwaszeniu stężonym kwasem solnym, ekstrahowano produkt octanem etylu. Ekstrakty octanowe po wysuszeniu bezwodnym siarczanem magnezu odparowano do sucha. Otrzymano 113 mg (84%) surowej p-nitrokarbobenzoksy-DL-alaniny o temperaturze topnienia 128—129°C (temperatura topnienia według literatury 132—134°C) nie dającej depresji temperatury topnienia z próbką p-nitrokarbobenzoksy-DL-alaniny otrzymaną inną metodą.

Przykład II. 450 mg (5 mM) DL-alaniny rozpuszczono w 5 ml 1n NaOH (5 mM) i dodano 2,09 g (7,5 mM) węglanu benzylowo-8-chinolilowego rozpuszczonego w 7,5 ml dwumetyloformamidu. Po 5 minutach wstrząsania następowało ujednolicenie roztworu. Roztwór pozostawiono przez 0,5 godziny w temperaturze 20°C. Po tym okresie czasu dodano 20 ml wody i wyekstrahowano trzykrotnie do octanu etylu nieprzereagowany węglan benzylowo-8-chinolilowy i utworzoną w reakcji 8-hydroksychinolinę. Warstwę wodną wykwaszono stężonym kwasem solnym i wydzielony karbobenzoksyaminokwas ekstrahowano do octanu etylu. Po wysuszeniu octan odparowano i otrzymano 926 mg (83%) surowej karbobenzoksy-DL-alaniny o temperaturze topnienia 110—111°C (temperatura topnienia według literatury 114—115°C), nie dającej depresji temperatury topnienia z próbką autentycznej karbobenzoksy-DL-alaniny. Z pierwszego wyciągu octanowego przez wymycie 0,1 n kwasem solnym można usunąć 8-hydroksychinolinę i przez odparowanie octanu etylu zregenerować nieprzereagowany węglan benzylowo-8-chinolilowy.

Przykład III. 840 mg (3 mM) węglanu benzylowo-8-chinolilowego rozpuszczono w 1 ml dwumetyloformamidu i dodano 550 mg (2,5 mM) estru III-rzęd. butylowego L-fenyloalaniny rozpuszczonego w 7 ml dwumetyloformamidu. Po 0,5 godzinnej reakcji w temperaturze 20°C dodano 20 ml octanu etylu i warstwę octanową wymywano 2n kwasem solnym i wodą. Po wysuszeniu octan odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem. Uzyskano 880 mg estru III-rzęd. butylowego karbobenzoksy-L-fenyloalaniny o temperaturze topnienia 77—79°C (temperatura topnienia według literatury 81—82°C).

Zastrzeżenie patentowe

Sposób wytwarzania aralkiloksykarbonyloaminokwasów **znamienny tym**, że węglan aralkilowo-8-chinolilowy ewentualnie rozpuszczony w dwumetyloformamidzie

5

poddaje się reakcji z wodnym roztworem soli sodowej, potasowej lub trójkąloamoniowej aminokwasu albo z estrem aminokwasu rozpuszczonym w dwumetyloformamidzie, po czym z roztworu poreakcyjnego usuwa się nieprzereagowany węglan aralkilo-8-chinolilowy i tworzącą się w czasie reakcji 8-hydroksychinolinę przez wy-

6

mywanie nie mieszającymi się z wodą rozpuszczalnikami, takimi jak np. octan etylu, a uzyskany aralkiloksykarbonylo-aminokwas ewentualnie w postaci estru wytrąca się z warstwy wodnej za pomocą kwasu i ekstrahuje rozpuszczalnikiem nie mieszającym się z wodą, takim jak np. octanu etylu.