

**POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA**



**URZĄD
PATENTOWY
PRL**

OPIS PATENTOWY

68232

Patent dodatkowy
do patentu _____

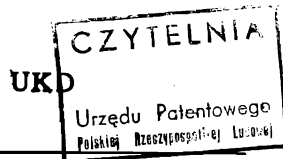
Zgłoszono: 20.VI.1968 (P 127 614)

Pierwszeństwo: _____

Opublikowano: 30.VI.1973

Kl. 12q,6/01

MKP C07c 103/52



Współtwórcy wynalazku: Gotfryd Kupryszewski, Feliks Muzalewski

Właściciel patentu: Jeleniogórskie Zakłady Farmaceutyczne „Polfarm”
Przedsiębiorstwo Państwowe, Jelenia Góra (Polska)

Sposób otrzymywania pochodnych peptydów

1

Wynalazek dotyczy sposobu otrzymywania pochodnych peptydów o wzorze, jak na rysunku, gdzie R oznacza acyl, R' oznacza wodór lub acyl, R'' oznacza wodór, alkil, aryl, lub benzyl, X oznacza alkoksyl, n oznacza 1,2,3... itd.

Peptydy oraz ich pochodne znajdują coraz szersze zastosowanie w lecznictwie, gdyż cały szereg hormonów oraz antybiotyków należy do tej grupy związków. Poza tym połączenie aminokwasów lub peptydów z różnego typu lekami często polepsza właściwości terapeutyczne tych ostatnich.

Jedną z częściej stosowanych dróg syntezy peptydów polega na aminolizie „aktywnych” estrów fenylo-nych N-acylowanych aminokwasów lub peptydów, zawierających elektronoakceptorowe podstawniki w ugrupowaniu fenoksylo-owym; stosuje się przy tym takie estry, jak p-nitrofenylowe (Bodanszky M., Nature, 175, 685 (1955), 2,4,6-tró- chlorofenylowe (Kupryszewski G., Kaczmarek M., Roczniki Chem., 35, 931 (1961); ibid., 35, 595 (1961), 2,4,5-tró- chlorofenylowe (Pless J., Boissonnas R. A., Helv. Chim. Acta, 46, 1609 (1963)), pięcioklorofe- nylowe (Kupryszewski G., Formela M., Roczniki Chem., 35, 1533 (1961); Zesz. Nauk. WSP Gdańsk, 1, 99 (1961)), p-metylosulfonylofenylowe (Schwyzer R., Sieber P., Helv. Chim. Acta, 41, 2190 (1958) oraz p-sulfonamidofenylowe (Kupryszewski G., Muzalewski F., Zesz. Nauk. WSP Gdańsk, 7, 159 (1967)). Wadą wymienionych wyżej metod jest trudność w oczyszczeniu uzyskanych peptydów od

2

powstających w procesie aminolizy fenoli oraz nie- wielkich ilości wyjściowych estrów fenylo-nych.

Sposobem według wynalazku do otrzymywania pochodnych peptydów (wzór) na drodze aminolizy 5 aktywnych estrów N-acylowanych aminokwasów zastosowano aktywne estry p-[acetylosulfonamido]- fenylo-nych N-acylowanych aminokwasów. Aktywne estry p-[acetylosulfonamido]-fenylowe szczególnie nadają się do syntezy wiązania peptydowego ze 10 względu na zwiększenie efektu elektronoakcepto- rowego grupy sulfonamidowej przez podstawienie atomu wodoru w tej grupie resztą acetylową. Po- nadto reszta ta zwiększa kwasowość pozostałego wodoru grupy sulfonamidowej do tego stopnia, iż 15 estry p-[acetylosulfonamido]-fenylowe podobnie, jak i wolny p-[acetylosulfonamido]-fenol tworzą w roztworze węglanu sodowego łatwo rozpuszczal- ne w wodzie sole sodowe. Ta bardzo cenna właś- ciwość ułatwia oddzielenie uzyskanych w procesie aminolizy estrów N-acylowanych peptydów od łat- 20 wo rozpuszczalnych w wodzie soli sodowych p-[acetylosulfonamido]-fenolu i niewielkich ilości wyjściowych estrów p-[acetylosulfonamido]-fenylo- wych.

Sposobem według wynalazku aminolizę aktywnych estrów p-[acetylosulfonamido]-fenylowych prowadzi się w rozpuszczalniku organicznym, np. w octanie etylu, dioksanie lub tetrahydrofuranie, 25 za pomocą alkilowych estrów aminokwasów lub alkilowych estrów peptydów. Reakcja aminolizy 30

przebiega w temperaturze pokojowej z wydajnościami od 32 do 89%. Uzyskiwane w ten sposób estry N-acylowanych peptydów charakteryzują się wysokim stopniem czystości. Syntezę pochodnych peptydów według wynalazku wyjaśniają przykłady IX — XVI.

Zastosowane w procesie aminolizy estry p-[acetylosulfonamido]-fenylowe N-acylowanych aminokwasów są związkami nowymi. Otrzymuje się je metodą mieszanych bezwodników w ten sposób, iż na roztwór N-acylowanego aminokwasu i p-[acetylosulfonamido]-fenolu w aminie trzeciorzędowej, takiej, jak np. pirydyna, działa się chlorkiem kwasowym np. tlenochlorkiem fosforu, chlorkiem tienu lub benzenosulfchlorkiem, albo roztworem chlorku kwasowego w rozpuszczalniku organicznym.

Estry p-[acetylosulfonamido]-fenylowe N-acylowanych aminokwasów otrzymuje się także działaniem dwucykloheksylokarbodiimidu na roztwór N-acylowanego aminokwasu i p-[acetylosulfonamido]-fenolu w rozpuszczalniku organicznym.

Omawiane estry p-[acetylosulfonamido]-fenylowe można otrzymać również poprzez acetylowanie bezwodnikiem octowym lub innym czynnikiem acetylującym w bezwodnej pirydynie odpowiednich estrów p-sulfonamidofenyloowych N-acylowanych aminokwasów.

Aktywne estry p-[acetylosulfonamido]-fenylowe N-acylowanych aminokwasów otrzymuje się wyżej wymienionymi metodami w postaci krystalicznej z dużymi wydajnościami od 72 do 90%. Poszczególne metody otrzymywania aktywnych estrów p-[acetylosulfonamido]-fenylowych wyjaśnione są za pomocą przykładów I — VIII. W przykładach temperatury podano w stopniach Celsjusza.

Przykład I. 20,5 g (0,1 mola) N-ftaliloglicyny i 21,5 g (0,1 mola) p-[acetylosulfonamido]-fenolu rozpuszcza się w 250 cm³ bezwodnej pirydyny. Do chłodzonego w temperaturze 0°C roztworu wkrapla się w ciągu 1 godziny roztwór 15,3 g (0,1 mola) tlenochlorku fosforu w 30 cm³ chlorku metylenu. Mieszaninę reagującą pozostawia się na 1 godzinę w temperaturze pokojowej, po czym wylewa do 3000 cm³ wody z lodem i pozostawia do następnego dnia. Wytrącony krystaliczny osad odsącza się, przemywa wodą do zaniku zapachu pirydyny i suszy. Otrzymuje się 36 g (80% wydajności) estru p-[acetylosulfonamido]-fenylowego N-ftaliloglicyny, który po krystalizacji z octanu etylu wykazuje temperaturę topnienia 183 — 184°C. Analiza: dla wzoru C₁₈H₁₄O₇N₂S — obliczono: 6,96% N; otrzymano: 7,04% N.

Przykład II. 20,9 g (0,1 mola) N-karbobenzoksyglicyny i 21,5 g (0,1 mola) p-[acetylosulfonamido]-fenolu rozpuszcza się w 220 cm³ bezwodnej pirydyny. Do chłodzonego w temperaturze 0°C roztworu wkrapla się w ciągu 1 godziny 17,7 g (0,1 mola) benzenosulfchlorku, a następnie mieszaninę reagującą pozostawia na dalszą godzinę w temperaturze pokojowej, po czym wylewa do 3000 cm³ wody z lodem. Następnego dnia odsącza się krystaliczny osad, przemywa wodą i suszy. Otrzymuje się 34 g (84% wydajności) estru p-[acetylosulfonamido]-fenylowego N-karbobenzoksyglicyny, który po krystalizacji z mieszaniny octan

etylu — eter naftowy wykazuje temperaturę topnienia 176 — 178°C. Analiza: dla wzoru C₁₈H₁₈O₇N₂S — obliczono: 6,90% N; otrzymano: 6,94% N.

Przykład III. 26,1 g (0,1 mola) N-ftalilo-DL-leucyny i 21,5 g (0,1 mola) p-[acetylosulfonamido]-fenolu rozpuszcza się w 160 cm³ bezwodnej pirydyny. Do chłodzonego w temperaturze 0°C roztworu wkrapla się w ciągu 1 godziny roztwór 15,3 g (0,1 mola) tlenochlorku fosforu w 30 cm³ chlorku metylenu, pozostawia mieszaninę reagującą na dalszą godzinę w temperaturze pokojowej, po czym wylewa do 3000 cm³ wody z lodem. Następnego dnia odsącza się krystaliczny osad, przemywa wodą i suszy. Uzyskuje się 38 g (83% wydajności) estru p-[acetylosulfonamido]-fenylowego N-ftalilo-DL-leucyny, który po krystalizacji z mieszaniny octanu etylu i eteru naftowego wykazuje temperaturę topnienia 176 — 177°C. Analiza dla wzoru: C₂₂H₂₂O₇N₂S — obliczono: 6,12% N; otrzymano: 5,85% N.

Przykład IV. 26,5 g (0,1 mola) N-karbobenzoksy-DL-leucyny i 21,5 g (0,1 mola) p-[acetylosulfonamido]-fenolu rozpuszcza się w 220 cm³ bezwodnej pirydyny. Do chłodzonego w temperaturze 0°C roztworu wkrapla się w ciągu 1 godziny 17,7 g (0,1 mola) benzenosulfchlorku, pozostawia mieszaninę reagującą na dalszą godzinę w temperaturze pokojowej, po czym wylewa do 3000 cm³ wody z lodem. Następnego dnia odsącza się krystaliczny osad, przemywa wodą i suszy. Otrzymuje się 37 g (80% wydajności) estru p-[acetylosulfonamido]-fenylowego N-karbobenzoksy-DL-leucyny, który po krystalizacji z octanu etylu wykazuje temperaturę topnienia 145 — 146°C. Analiza: dla wzoru C₂₂H₂₆O₇N₂S — obliczono: 6,05% N; otrzymano: 6,30% N.

Przykład V. 26,5 g (0,1 mola) N-karbobenzoksy-L-leucyny i 21,5 g (0,1 mola) p-[acetylosulfonamido]-fenolu rozpuszcza się w 200 cm³ bezwodnej pirydyny. Do chłodzonego w temperaturze 0°C roztworu wkrapla się w ciągu 1 godziny roztwór 15,3 g (0,1 mola) tlenochlorku fosforu w 30 cm³ chlorku metylenu, pozostawia mieszaninę reagującą na dalszą godzinę w temperaturze pokojowej, po czym wylewa do 3000 cm³ wody z lodem. Następnego dnia odsącza się krystaliczny osad, przemywa wodą i suszy. Uzyskuje się 33 g (72% wydajności) estru p-[acetylosulfonamido]-fenylowego N-karbobenzoksy-L-leucyny, który po krystalizacji z octanu etylu wykazuje temperaturę topnienia 145,5 — 146°C oraz skręcalność właściwą $[\alpha]_D^{20} = -21^\circ$ (c=2, octan etylu). Analiza: dla wzoru C₂₂H₂₆O₇N₂S — obliczono: 6,05% N; otrzymano: 5,94% N.

Przykład VI. Do roztworu 36 g (0,1 mola) estru p-sulfonamidofenyloвого N-ftaliloglicyny w 180 cm³ bezwodnej pirydyny wkrapla się 20,4 g (0,2 mola) bezwodnika octowego. Następnie ogrzewa się mieszaninę w temperaturze 70 — 80°C w ciągu 3 godzin, po czym chłodzi ją, odsącza osad i przemywa go wodą. Otrzymuje się 29 g (72% wydajności) estru p-[acetylosulfonamido]-fenylowego N-ftaliloglicyny, który po krystalizacji z octanu etylu wykazuje temperaturę topnienia 183 — 184°C.

Przykład VII. Do roztworu 42 g (0,1 mola) estru p-sulfonamidofenyloвого N-karbobenzoksy-

DL-leucyny w 200 cm³ bezwodnej pirydyny wkrapla się 20,4 g (0,2 mola) bezwodnika octowego. Następnie ogrzewa się mieszaninę w temperaturze 65 — 85°C w ciągu 3 godzin, po czym chłodzi ją, odsącza osad i przemywa go wodą. Uzyskuje się 35 g (75% wydajności) estru p-[acetylosulfonamido]-fenyloвого N-karbobenzoksy-DL-leucyny, który po krystalizacji z octanu etylu wykazuje temperaturę topnienia 145 — 146°C.

Przykład VIII. Do roztworu 20,9 g (0,1 mola) N-karbobenzoksyglicyny i 21,5 g (0,1 mola) p-[acetylosulfonamido]-fenolu w 200 cm³ bezwodnej pirydyny dodaje się 19,4 g (0,1 mola) dwucykloheksylokarbodwuimidu. Po upływie 6 godzin odsącza się wydzielony dwucykloheksylomocznik, a przesącz zataża pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość po destylacji wylewa się do 3000 cm³ wody, odsącza wydzielony osad, przemywa go wodą i suszy. Otrzymuje się 30 g (74% wydajności) estru p-[acetylosulfonamido]-fenyloвого N-karbobenzoksyglicyny, który po krystalizacji z octanu etylu wykazuje temperaturę topnienia 176 — 178°C.

Przykład IX. 40, 2 g (0,1 mola) estru p-[acetylosulfonamido]-fenyloвого N-ftaliloglicyny i 9,8 g (0,11 mola) świeżo przygotowanego estru metylowego glicyny rozpuszcza się w 250 cm³ dioksanu, zawierającego dodatkowo 6 cm³ kwasu octowego i roztwór pozostawia w temperaturze pokojowej. Po upływie 24 godzin odsącza się wydzielony krystaliczny osad. Otrzymuje się 21 g (76% wydajności) estru metylowego N-ftaliloglicyny o temperaturze topnienia 202 — 203°C.

Przykład X. 40,6 g (0,1 mola) estru p-[acetylosulfonamido]-fenyloвого N-karbobenzoksyglicyny i 11,3 g (0,11 mola) świeżo przygotowanego estru etylowego glicyny rozpuszcza się w 400 cm³ dioksanu, zawierającego dodatkowo 6 cm³ kwasu octowego i pozostawia na 48 godzin w temperaturze pokojowej. Następnie oddestylowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem dioksan, a pozostałość rozpuszcza w octanie etylu. Uzyskany roztwór przemywa się kolejno 5% roztworem węgla sodowego, wodą, 5% roztworem kwasu solnego i ponownie wodą, po czym osusza bezwodnym siarczanem magnezowym. Po oddestylowaniu pod zmniejszonym ciśnieniem octanu etylu pozostaje krystaliczny osad, który oczyszcza się przez krystalizację z mieszaniny octanu etylu i eteru naftowego. Otrzymuje się 24 g (81% wydajności) estru etylowego N-karbobenzoksyglicyny o temperaturze topnienia 80 — 81°C.

Przykład XI. 40,6 g (0,1 mola) estru p-[acetylosulfonamido]-fenyloвого N-karbobenzoksyglicyny i 19 g (0,11 mola) świeżo przygotowanego estru metylowego L-leucyny rozpuszcza się w 400 cm³ dioksanu, zawierającego dodatkowo 6 cm³ kwasu octowego i pozostawia roztwór na 48 godzin w temperaturze pokojowej. Dalsze wydzielanie i oczyszczanie produktu przeprowadza się podobnie, jak w przykładzie X. Uzyskuje się 24 g (71% wydajności) estru metylowego N-karbobenzoksyglicylo-L-leucyny o temperaturze topnienia 64 — 65°C.

Przykład XII. 45,8 g (0,1 mola) estru p-[acetylosulfonamido]-fenyloвого N-ftalilo-DL-leucyny i 9,8 g (0,11 mola) świeżo przygotowanego estru

metylowego glicyny rozpuszcza się w 400 cm³ dioksanu, zawierającego dodatkowo 6 cm³ kwasu octowego i pozostawia roztwór na 48 godzin w temperaturze pokojowej. Dalsze wydzielanie produktu przeprowadza się podobnie, jak w przykładzie X. Otrzymuje się 27 g (84% wydajności) estru metylowego N-ftalilo-DL-leucyloglicyny o temperaturze topnienia 104 — 105°C.

Przykład XIII. 46,2 g (0,1 mola) estru p-[acetylosulfonamido]-fenyloвого N-karbobenzoksy-L-leucyny i 9,8 g (0,11 mola) świeżo przygotowanego estru metyloвого glicyny rozpuszcza się w 400 cm³ dioksanu, zawierającego dodatkowo 6 cm³ kwasu octowego i pozostawia roztwór na 48 godzin w temperaturze pokojowej. Dalsze wydzielanie produktu przeprowadza się podobnie, jak w przykładzie X. Uzyskuje się 30 g (89% wydajności) estru metylowego N-karbobenzoksy-L-leucyloglicyny o temperaturze topnienia 91 — 93°C i skręcalności właściwej $[\alpha]_D^{20} = -26,6^\circ$ (c=5, metanol).

Przykład XIV. 46,2 g (0,1 mola) estru p-[acetylosulfonamido]-fenyloвого N-karbobenzoksy-L-leucyny i 19 g (0,11 mola) świeżo przygotowanego estru metylowego L-leucyny rozpuszcza się w 200 cm³ dioksanu, zawierającego dodatkowo 6 cm³ kwasu octowego i pozostawia roztwór na 48 godzin w temperaturze pokojowej. Dalsze wydzielanie produktu przeprowadza się podobnie, jak w przykładzie X. Otrzymuje się 29 g (74% wydajności) estru metylowego N-karbobenzoksy-L-leucylo-L-leucyny o temperaturze topnienia 96 — 97°C i skręcalności właściwej $[\alpha]_D^{20} = -33^\circ$ (c=10, etanol).

Przykład XV. 45,9 g (0,1 mola) estru p-[acetylosulfonamido]-fenyloвого N-karbobenzoksy-L-metioniny i 29,4 g (0,1 mola) estru metylowego L-aspartylo-L-fenylalaniny rozpuszcza się w 1200 cm³ dwumetyloformamidu, zawierającego 14 cm³ trójetyloaminy i pozostawia na 120 godzin w temperaturze pokojowej. Następnie oziębia się mieszaninę reagującą do temperatury —5°C i zakwasza 5% wodnym roztworem kwasu cytrynowego. Wytrącony bezbarwny osad odsącza się, przemywa wodą, wrzącym metanolem i wrzącym cykloheksanem, po czym oczyszcza się przez krystalizację z rozcieńczonego etanolu. Otrzymuje się 18,8 g (34% wydajności) estru metylowego N-karbobenzoksy-L-metionylo-L-aspartylo-L-fenylalaniny o temperaturze topnienia 144 — 146°C i skręcalności właściwej $[\alpha]_D^{20} = -23,9^\circ$ (c=1, metanol).

Przykład XVI. 54,0 g (0,1 mola) estru p-[acetylosulfonamido]-fenyloвого N-karbobenzoksy-L-tryptofanu i 42,6 g (0,1 mola) estru metylowego L-metionylo-L-aspartylo-L-fenylalaniny rozpuszcza się w 5000 cm³ dwumetyloformamidu, zawierającego 14 cm³ trójetyloaminy i pozostawia na 120 godzin w temperaturze pokojowej. Następnie zakwasza się mieszaninę reagującą 5% wodnym roztworem kwasu cytrynowego. Wytrącony olej rozpuszcza się w octanie etylu, a uzyskany roztwór przemywa się 5% wodnym roztworem kwasu cytrynowego i wodą, po czym osusza bezwodnym siarczanem magnezowym. W dalszym ciągu oddestylowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem octan etylu, a pozostałość zadaje eterem etylowym.

Wytrącony osad przemywa się wrzącym cykloheksanem. Otrzymuje się 24 g (32₀%, wydajności) estru metylowego N-karbobenzoksy-L-tryptofanylo-L-metionylo-L-aspartylo-L-feniloalaniny o temperaturze topnienia 158—160°C i skręcalności właściwej $[\alpha]_D^{22} = -31,2^\circ$ ($c = 0,5$; metanol).

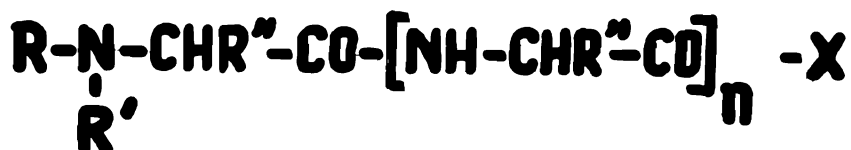
Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób otrzymywania pochodnych peptydów o wzorze jak na rysunku, w którym R oznacza acyl, R' oznacza wodór lub acyl, R'' oznacza wodór lub alkil, lub aryl, lub benzyl, X oznacza alkoksyl, n oznacza 1,2,3... itd., na drodze aminolizy aktywnych estrów N-acylowanych aminokwasów, **znamienny tym**, że aminolizie poddaje się aktywne estry p-[acetylosulfonamido]-fenylowe N-acylowanych aminokwasów za pomocą znanych alkilowych estrów aminokwasów lub alkilowych estrów peptydów w środowisku niewodnym w temperaturze pokojowej, a powstający podczas reakcji p-[acetylosulfonamido]-fenol oraz śladowe ilości niezmienionego estru aktywnego oddziela się od produktu przez wymywanie wodnym roztworem węglanu lub wodorowęglanu sodowego.

2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stosuje się aktywne estry p-[acetylosulfonamido]-fenylowe N-acylowanych aminokwasów, otrzymane w wyniku działania chlorkiem kwasowym lub roztworem chlorku kwasowego w rozpuszczalniku organicznym na roztwór N-acylowanego aminokwasu w aminie trzeciorzędowej lub też na roztwór albo zawiesinę ich soli z aminami trzeciorzędowymi w rozpuszczalniku organicznym w temperaturze od +15°C do -15°C.

3. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stosuje się aktywne estry p-[acetylosulfonamido]-fenylowe N-acylowanych aminokwasów, otrzymane poprzez kondensację N-acylowanych aminokwasów z p-[acetylosulfonamido]-fenolem za pomocą dwucykloheksylokarbodwuimidu w rozpuszczalniku organicznym.

4. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że stosuje się aktywne estry p-[acetylosulfonamido]-fenylowe N-acylowanych aminokwasów, otrzymane w wyniku acetylowania bezwodnikiem octowym lub innym czynnikiem acetylującym znanych estrów p-sulfonamidofenylowych N-acylowanych aminokwasów.



WZÓR