



Patent tymczasowy dodatkowy
do patentu nr ———

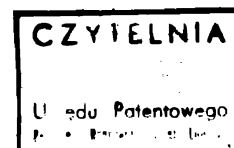
Int. Cl.³ C07C 103/52

Zgłoszono: 17.10.80 (P. 227347)

Pierwszeństwo ———

Zgłoszenie ogłoszono: 21.08.81

Opis patentowy opublikowano: 31.01.1984



Twórcy wynalazku: Barbara Rzeszotarska, Halina Kmieciak-Chmura,
Krzysztof Pawełczak, Elżbieta Masiukiewicz

Uprawniony z patentu tymczasowego: Wyższa Szkoła Pedagogiczna im. Powstańców Śląskich,
Opole (Polska)

Sposób wytwarzania estru metylowego N^α-karbobenzoksy-L-leucylo-N^G-nitro-L-arginylo-L-proliny

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania estru metylowego N^α-karbobenzoksy-L-leucylo-N^G-nitro-L-arginylo-L-proliny, przeznaczonego do wytwarzania peptydów, w szczególności luliberyny, jej fragmentów i analogów.

Znane są dotychczas trzy sposoby otrzymywania estru metylowego N^α-karbobenzoksy-L-leucylo-N^G-nitro-L-arginylo-L-proliny z N^α-karbobenzoksy-L-leucyny i soli estru metylowego N^G-nitro-L-arginylo-L-proliny z dodatkiem trzeciorzędowej aminy jako czynnika uwalniającego grupę α-aminową estru metylowego N^G-nitro-L-arginylo-L-proliny. Różnią się one rodzajem aktywacji grupy karboksylowej N^α-karbobenzoksy-L-leucyny. W dwóch pierwszych sposobach, gdzie grupę karboksylową N^α-karbobenzoksy-L-leucyny aktywuje się albo przy pomocy mieszanego bezwodnika z chloromrówczanem izobutyli, albo przy pomocy estru 2,4,5-trójklorofenolowego, otrzymuje się produkt z wydajnością 70%, a ponadto do oczyszczania produktu końcowego, otrzymanego za pomocą estru 2,4,5-trójklorofenolowego, stosuje się chromatografię kolumnową. W sposobie trzecim, dającym lepsze rezultaty, znanym z J. Med. Chem., 16 1144 (1973), jako formę aktywną N^α-karbobenzoksy-L-leucyny, używa się jej ester N-sukcynimidylowy. Otrzymuje się produkt z wydajnością 80%, jednakże peptyd zanieczyszczony jest produktem ubocznym, którego nie udaje się oddzielić od właściwego na drodze ekstrakcji lub wytrącania z roztworów. Ponadto synteza estru N-sukcynimidylowego N^α-karbobenzoksy-L-leucyny daje produkt z wydajnością 51%.

Istota wynalazku polega na wytwarzaniu estru metylowego N-karbobenzoksy-L-leucylo-N^G-nitro-L-arginylo-L-proliny z estru chinolyl-8-owego N^α-karbobenzoksy-L-leucyny jako estru aktywnego i z bromowodorku estru metylowego N^G-nitro-L-arginylo-L-proliny, w środowisku dioksanu, w obecności trietyloaminy jako czynnika uwalniającego grupę N^α-aminową estru metylowego N^G-nitro-L-arginylo-L-proliny.

Sposobem według wynalazku rozpuszcza się ester chinolyl-8-owy N^α-karbobenzoksy-L-leucyny w dioksanie, do roztworu dodaje się osad bromowodorku estru metylowego N^G-nitro-L-arginylo-L-proliny a następnie porcjami w ciągu trzech godzin trietyloaminę. Reakcję prowadzi się 25 godzin w temperaturze pokojowej, a następnie do mieszaniny reakcyjnej dodaje 1 N kwasu

solnego i tripeptyd ekstrahuje przy pomocy octanu etylu. Warstwę octanową wymywa się 5% wodnym roztworem NaHCO_3 i wodą do odczynu obojętnego, suszy bezwodnym Na_2SO_4 a octan etylu odparowuje. Przez dwukrotne wytrącanie eterem etylowym z roztworu octanu etylu otrzymuje się produkt z 83% wydajnością teoretyczną o $[\alpha]^{26}_D = -72,1$ (C 0,5 etanol) chromatograficznie jednorodny w czterech różnych typach układów rozpuszczalników.

Wynalazek ilustruje poniższy przykład stosowania.

Przykład. 11,25 g (28,7 mM) estru chinolyl-8-owego N^α -karbobenzoksy-L-leucyny rozpuszczano w 110 mL dioksanu i do mieszanego roztworu dodano 15,02 g (34,44 mM) 1,31 bromowodorku estru metylowego N^G -nitro-L-arginylo-L-proliny i w ciągu trzech godzin czterema porcjami dodano 6,27 mL (45,12 mM) trietyloaminy. Po 25 godzinach reakcji w temperaturze pokojowej do mieszaniny reakcyjnej dodaje się 175 mL 1 N kwasu solnego i tripeptyd ekstrahuje octanem etylu. Warstwę octanową wymyto 5% wodnym roztworem NaHCO_3 (4×50 mL) i wodą do odczynu obojętnego, suszono bezwodnym Na_2SO_4 , a octan etylu odparowano. Po dwukrotnym wytrąceniu eterem etylowym z roztworem octanu etylu otrzymano 13,83 g (85% wydajności teoretycznej) produktu o $[\alpha]^{26}_D = -72,1$ (C 0,5 etanol) chromatograficznie jednorodnego w następujących układach rozpuszczalników:

chloroform/metanol/kwas octowy = 18 : 2 : 1 $R_f = 0,65$

chloroform/metanol/dioksan/stęż. amoniak = 12 : 7 : 5 : 1 $R_f = 0,75$

n-butanol/kwas octowy/pirydyna/woda = 30 : 6 : 20 : 24 $R_f = 0,75$

aceton/chloroform = 1 : 1 $R_f = 0,48$

Analiza dla wzoru: $\text{C}_{26}\text{H}_{39}\text{N}_7\text{O}_8$ $M = 577,647$

obliczone: C 54,06%; H 6,80%; N 16,97%

znalezione: C 54,22%; H 7,18%; N 16,90%

Zastrzeżenie patentowe

Sposób wytwarzania estru metylowego N^α -karbobenzoksy-L-leucylo- N^G -nitro-L-arginylo-L-proliny na drodze kondensacji estru aktywnego N^α -karbobenzoksy-L-leucyny z bromowodorkiem estru metylowego N^G -nitro-L-arginylo-L-proliny w środowisku dioksanu i w obecności trietyloaminy, **znamienny tym**, że jako ester aktywny stosuje się ester chinolyl-8-owy N^α -karbobenzoksy-L-leucyny.