

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

81109

Patent dodatkowy
do patentu

MKP C07c 101/24

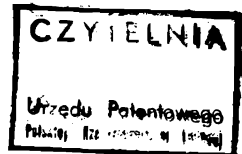
Zgłoszono: 01.07.1970 (P. 141719)

Pierwszeństwo: 03.07.1969 Węgry

Zgłoszenie ogłoszono: 05.04.1973

Opis patentowy opublikowano: 20.01.1976

Int. Cl.² C07C 101/24



Twórcy wynalazku: Elemér Ezer, László Szporny, Béla Rosdy, Tibor Forgacs,
Leontin Hörömpö, Csilla Meszáros, Lajos Kisfaludy, Tomáš Szirtes

Uprawniony z patentu: Richter Gedeon Vegyészeti Gyár RT,
Budapeszt (Węgry)

Sposób wytwarzania nowych aminokwasów zawierających dodatkową grupę zasadową

Wynalazek dotyczy nowych aminokwasów i zbudowanych z nich peptydów, o częściowo chronionych grupach funkcyjnych o charakterze zasadowym, to jest zawierającym oprócz grupy α -aminowej dodatkową grupę zasadową, wykazujących przeciwwrzdzeniowe działanie.

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych, aminokwasów zawierających dodatkową grupę zasadową i ich pochodnych o częściowo ochronionych grupach funkcyjnych o ogólnym wzorze $\text{Ac}-\text{X}-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOR}$, w którym X oznacza grupę organiczną zawierającą atom azotu zdolny do acylowania, zacylowany grupą o symbolu Ac, a R oznacza atom wodoru lub grupę alkilową o 1–5 atomach węgla oraz ich soli addycyjnych z kwasami względnie soli wewnątrzcząsteczkowych wolnych kwasów karboksylowych.

W ostatnim okresie ukazuje się coraz więcej publikacji na temat biosyntezy kwaśnych kompleksów mukopolisacharydowo-białkowych, jak również i różnych układów enzymatycznych, odgrywających istotną rolę w schorzeniach tkanki łącznej, (np. elastazy, pronazy, kollagenazy, itd.). Występującym w komórkach tkanki łącznej różnym enzymom proteolitycznym przypisuje się w ostatnim czasie ważną rolę również w przypadku schorzeń polegających na występowaniu stanów zapalnych. Hamowanie, lub stymulowanie działania tych enzymów stanowi nowy kierunek w badaniach nad lekami. W ostatnim okresie wprowadzono w praktyce szereg preparatów leczniczych, których działanie polega na hamowaniu aktywności określonych układów enzymatycznych, np. inhibitorów monoaminooksydazy, inhibitorów trypsyny, względnie kallikreiny oraz innych.

Nieoczekiwanie stwierdzono, że częściowo ochraniane zasadowe aminokwasy o wzorze $\text{Ac}-\text{X}-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{COOR}$, w którym X oznacza rodnik organiczny zawierający zdolny do acylowania atom azotu, Ac oznacza grupę acylową przyłączoną do wymienionego atomu azotu, oraz R oznacza atom wodoru lub rodnik alkilowy o 1–5 atomach węgla, jak również ich sole addycyjne utworzone z farmaceutycznie stosowanymi kwasami, wykazują korzystne właściwości farmakologiczne, a zwłaszcza oddziałują hamująco na przebieg choroby wrzodowej, a ponadto oddziałują stymulująco na proces wbudowywania siarki do tkanek chrząstkowych oraz zmniejszają wagę ciała.

Związek według wynalazku podawany szczurom praktycznie całkowicie hamuje postęp sztucznie wywołanych owrzodzeń. Można przyjąć, że efekt ten jest uwarunkowany zjawiskiem stymulacji enzymu, lub enzymów, biorących udział w biosyntezie kwaśnych mukopolisacharydów, przy czym z działaniem tym jest

prawdopodobnie związany zaobserwowany doświadczalnie fakt, że związki według wynalazku znacznie zwiększają wbudowywanie S^{35} do chrząstek oraz do żółtka szczerów; stopień tej inkorporacji może być przyjmowany za wskaźnik biosyntezy kwaśnego kompleksu białkowo-mukopolisacharydowego. W literaturze dotychczasowej nie znaleziono danych, które na podstawie eksperymentów *in vivo* wskazywałyby na znaczny wzrost stopnia wbudowywania S^{35} do chrząstek. Mechanizm określonego powyżej oddziaływania zmniejszającego łaknienie nie może być utożsamiany z mechanizmem działania dotychczasowych środków zmniejszających łaknienie, ponieważ w przypadku nowych związków nie stwierdzono oddziaływania na ośrodkowy układ nerwowy. Związki według wynalazku o ogólnym wzorze $Ac-X-CH(NH_2)COOR$ charakteryzują się zawartością wolnej grupy α -aminowej, która zapewnia tym nowym związkom rozpuszczalność w wodzie.

Symbol X oznaczać może praktycznie dowolne grupy organiczne, zawierające dający się acylować atom azotu, np. łańcuch alkilenowy podstawiony w pozycji α grupą aminową jak np. w lizynie lub łańcuch alkilenowy podstawiony resztą guanidynową jak np. w argininie albo łańcuch alkilenowy podstawiony rodnikiem heterocyklicznym, zawierającym w charakterze członu pierścienia atom azotu, dający się acylować np. grupę metylenową, jak w histydynie.

Grupą Ac może być dowolna grupa acylowa przyłączona do wymienionego dającego się acylować atomu azotu, np. grupa acylowa alifatycznego kwasu karboksylowego o 1–5 atomach węgla, lub kwasu karboksylowego zawierającego resztę fenylową, jak np. grupa benzoksykarbonylowa, a ponadto grupa acylowa zawierająca dalsze grupy zasadowe, a więc grupa aminoacylowa; w tym ostatnim przypadku korzystnie jest, aby grupa aminowa wchodząca w skład rzeczonyj grupy acylowej była ochroniona w znany sposób np. za pomocą reszty p-chlorobenzoksykarbonylowej. Podstawnikiem R może być atom wodoru lub grupa alkilowa o 1–5 atomach węgla; w pierwszym przypadku cząsteczka jest grupą p-chlorobenzoksykarbonylową, a X oznacza grupę $-NH-CH_2-CH_2-CH_2-CH_2-$ oraz R oznacza atom wodoru; związek ten można znanyymi sposobami, np. przez równoczesną reakcję z chlorkiem tionylu i metanolem, przeprowadzić w odpowiedni ester.

Związki o wzorze $Ac-X-CH(NH_2)-COOR$ wytworzone sposobem według wynalazku, są związkami nowymi. Związki o wzorze $Ac-X-CH(NH_2)-COOR$ wytworzone sposobem według wynalazku, zależnie od użytych warunków reakcji, otrzymywane są w formie wolnych zasad, lub kwasowych soli addycyjnych. Związki o wyżej podanym wzorze, w którym R oznacza atom wodoru, mogą również tworzyć sole metali, względnie sole aminowe. Ze związków wytworzonych w formie soli, można znanyymi metodami wytwarzać zasady lub zasadowe kwasy, bądź też związki takie mogą być ewentualnie przeprowadzane w inne terapeutycznie stosowalne sole, a zwłaszcza kwasowe sole addycyjne.

Wynalazek ilustrują niżej podane przykłady.

Przykład 1. Otrzymywanie chlorowodoru estru metylowego 2-(p-chlorobenzoksykarbonylo)-L-lizyny. I.1. 9,0 g (0,049 mola) monochlorowodoru L-lizyny rozpuszcza się w 100 ml wody, roztwór zadaje 3,5 g węglanu miedziowego i otrzymaną zawiesinę gotuje w ciągu 0,5 godziny. Po oziębieniu do temperatury pokojowej mieszaninę reakcyjną odfiltrowuje się. Otrzymany niebieski przesącz zadaje się 6,0 g tlenku magnezu, mieszaninę oziębia do temperatury $0^{\circ}C$ i w tej temperaturze, mieszając wkrapla się w ciągu 0,5 godziny 12,7 ml chlorku p-chlorobenzoksykarbonylowego (porównać L. Kisfaludy i S. Dualsky, Acta Chim. Hung. 24, 301, 1960). Mieszaninę reakcyjną miesza się przez dalsze 2 godziny w temperaturze pokojowej po czym ponownie oziębia do temperatury $0^{\circ}C$ i wytrącony lawendowo-błękitny osad odfiltrowuje. Osad przemywa się starannie na filtrze za pomocą wody, potem etanolu i na koniec eterem, a następnie suszy na powietrzu. W ten sposób otrzymuje się 18,6 g kompleksu miedziowego.

Otrzymany w ten sposób kompleks miedziowy rozciera się na proszek i zawieszają w 325 ml 1 n roztworu kwasu solnego. Następnie przez zawiesinę przepuszcza się w ciągu 2–3 godzin gazowy siarkowodor, po czym ogrzewa się do wrzenia i sączy na gorąco w celu usunięcia siarczku miedziowego. Klarowny przesącz ochładza się i zadaje amoniakiem, aż do osiągnięcia wartości $pH = 5$. Otrzymany biały osad odsącza się, przemywa wodą i suszy w eksykatorze próżniowym nad pięciotlenkiem fosforu. Otrzymuje się 11,9 g ϵ -(p-chlorobenzoksykarbonylo)-L-lizyny (77% wydajności teoretycznej), o temperaturze topnienia $236-238^{\circ}C$. I.2. W wyposażonej w mieszałko, termometr, wkraplacz i rurkę z $CaCl_2$, okrągłodennej kolbie czteroszylnej sporządza się zawiesinę 6,3 g (0,02 mola) ϵ -(p-chlorobenzoksykarbonylo)-L-lizyny w 42 ml bezwodnego metanolu. Zawiesinę oziębia się do temperatury $0^{\circ}C$ i mieszając wkrapla 1,7 ml (0,023 mola) chlorku tionylu. Po kilku minutach otrzymuje się klarowny, żółty roztwór, który pozostawia się na przeciąg 0,5 godziny w temperaturze $40^{\circ}C$, a następnie w ciągu 20 godzin w temperaturze pokojowej. Następnie roztwór odfiltrowuje się i odparowuje pod obniżonym ciśnieniem. Żółtawo-białą, stałą pozostałość rozpuszcza się w metanolu i roztwór ponownie odparowuje do sucha. Operację tą powtarza się jeszcze dwukrotnie, po czym krystalizuje produkt z mieszaniny metanolu z eterem. Mieszaninę pozostawia się na przeciąg kilku godzin w chłodni, a następnie kryształki odfiltrowuje, przemywa mieszaniną eteru i metanolu (3 : 1) a na koniec suszy w eksykatorze próżniowym nad wodorotlenkiem

sodu. Otrzymuje się 5,1 g chlorowodorku estru metylowego ϵ -(p-chlorobenzoksycarbonylo)-L-lizyny o temperaturze topnienia 158–160°C. Chromatogram cienkowarstwowy na żelu krzemowym, rozwijany w układzie octan etylu – pirydyna – lodowaty kwas octowy – woda (60 : 20 : 6 : 11), wywoływany ninhydryną, względnie chlorem lub toluidyną daje R_f o wartości 0,48.

Analiza dla $C_{15}H_{22}O_4N_2Cl_2$ (365,25).

Obliczono:	49,3% C,	6,1% H,	7,7% N,	19,4% Cl,
Znaleziono:	49,5% C,	6,3% H,	7,8% N,	19,3% Cl.

Przykład II. Otrzymywanie chlorowodorku estru metylowego δ -(p-chlorobenzoksycarbonylo)-L-ornityny. II.1. 16,9 g (0,1 mola) mono-chlorowodorku L-ornityny rozpuszcza się w 170 ml wody, roztwór zadaje 5,85 g węglanu miedziowego i otrzymaną zawiesinę ogrzewa do wrzenia. Po ochłodzeniu mieszaninę odsącza się, a ciemnoniebieski przesącz oziębia do temperatury 0°C i mieszając wkrapla się w ciągu 20 minut równocześnie 20,7 ml chlorku p-chlorobenzoksycarbonylowego i 101,4 ml 2 n roztworu ługu sodowego. Mieszaninę reakcyjną miesza się jeszcze 0,5 godziny w temperaturze pokojowej, po czym wydzielony jasno-błękitny osad, odsącza, przemywa wodą i etanolem i suszy na powietrzu. Następnie kompleks miedziowy zawiesza się w 500 ml wody po czym przez otrzymaną zawiesinę w ciągu 2–3 godzin przepuszcza gazowy siarkowodór i mieszaninę pozostawia się na okres kilkunastu godzin w dokładnie zamkniętym naczyniu. Następnie zawiesinę rozcieńcza się wodą do objętości 1000 ml i ogrzewa do wrzenia. Gorącą mieszaninę zadaje się taką ilością kwasu solnego, aby biały osad, wytrącający się obok siarczku miedziowego uległ ponownemu rozpuszczeniu. Siarczek odfiltrowuje się na gorąco, a przesącz po oziębieniu zadaje stężonym roztworem wodorotlenku amonu, aż do ustalenia wartości pH = 4–5. Wytrącony biały produkt odsącza się, przemywa wodą, i suszy w eksykatorze próżniowym nad pięciotlenkiem fosforu. Otrzymuje się 17,6 g δ -(p-chlorobenzoksycarbonylo)-L-ornitynę o temperaturze topnienia (249) – 253–255°C. II.2. W okrągłodennej kolbie czteroszyjnej wyposażonej w mieszadło, termometr, wkraplacz i rurkę z chlorkiem wapnia wytwarza się zawiesinę 15,1 g (0,05 mola) δ -(p-chlorobenzoksycarbonylo)-L-ornityny w 105 ml bezwodnego metanolu. Zawiesinę oziębia się do temperatury 0°C i mieszając wkrapla 4,25 ml (0,0575 mola) chlorku tionylu. Po kilku minutach uzyskuje się klarowny, żółtawy roztwór, który pozostawia się na przeciąg 1,5 godziny w temperaturze 40°C a następnie przez 20 godzin w temperaturze pokojowej, po czym roztwór odsącza się i odparowuje do sucha pod obniżonym ciśnieniem. Żółtawo-białą stałą pozostałość rozpuszcza się w metanolu i roztwór ponownie odparowuje. Operację tą powtarza się jeszcze dwukrotnie, a następnie uzyskaną pozostałość krystalizuje z mieszaniny metanolu i eteru. Surowy produkt otrzymany w ilości 13,4 g krystalizuje się ponownie z mieszaniny metanolu i eteru. Otrzymuje się 9,3 g chlorowodorku estru metylowego δ -(p-chlorobenzoksycarbonylo)-L-ornityny, o temperaturze topnienia 160–162°C i wartości R_f = 0,48.

Analizy dla $C_{14}H_{22}O_4N_2Cl_2$ (351,22)

Obliczono:	47,9% C,	5,7% H,	8,0% N,	20,2% Cl,
Znaleziono:	47,9% C,	5,9% H,	8,1% N,	20,3% Cl.

Przykład III. Otrzymywanie ϵ -(p-chlorobenzoksycarbonylo-L-tyrozylo)-L-lizyny.

W czteroszyjnej kolbie okrągłodennej o objętości 250 ml wyposażonej w mieszadło, termometr, wkraplacz i rurkę z chlorkiem wapnia rozpuszcza się 10,3 g (29,4 moli) p-chlorobenzoksycarbonylo-L-tyrozyny w 100 ml bezwodnego czterowodorofuranu, który uprzednio zadaje się 4,1 ml (29,4 moli) trójetylaminy. Roztwór oziębia się do temperatury -15°C i mieszając wkrapla 3,82 ml (29,4 moli) estru izobutyloвого kwasu chlorowęglowego w taki sposób, aby temperatura mieszaniny utrzymywała się poniżej -10°C. Po ukończeniu wkraplania otrzymaną białą zawiesinę miesza się jeszcze 10 minut w temperaturze -10°C, a następnie wkrapla się wodny roztwór kompleksu miedziowego, wytworzonego w następujący sposób: zawiesinę 5,5 g (30 moli) monochlorowodorku L-lizyny i 1,75 g węglanu miedziowego w 30 ml wody ogrzewa się do wrzenia przez pół godziny i po oziębieniu mieszaninę odsącza się i ciemnobłękitny przesącz zadaje 15 ml 2 n ługu sodowego.

W czasie wkraplania wyżej wymienionego wodnego roztworu, mieszaninę reakcyjną utrzymuje się w temperaturze -10°C. Po zakończeniu wkraplania łaźnię oziębiającą usuwa się i mieszaninę reakcyjną miesza, aż do ogrzania do temperatury pokojowej. Otrzymaną jasno-niebieską zawiesinę wlewa się do 600 ml wody i po 1 godzinnym ochładzaniu lawendowo-błękitny osad odfiltrowuje się, przemywa wodą i suszy na powietrzu. Otrzymuje się 11–12 g produktu.

Z otrzymanego tym sposobem miedziowego kompleksu dwupeptydowego sporządza się zawiesinę w 450 ml wody i zawiesinę zadaje 30 ml 1 n roztworu kwasu solnego. Następnie przez ogrzewaną mieszaninę przepuszcza się w ciągu 3 godzin gazowy siarkowodór, a powstający siarczek miedziowy odsącza na gorąco i po ochłodzeniu doprowadza przesącz do wartości pH 5, za pomocą stężonego roztworu ługu sodowego. Wytrącony biały produkt odsącza się i przemywa wodą. Otrzymuje się 6,15 g ϵ -(p-chlorobenzoksycarbonylo)-L-

-tyrozylo)-L-lizynę o temperaturze topnienia (z rozkładem) 218–220°C i wartości $R_f = 0,2$.

Analiza dla: $C_{23}H_{28}O_6 N_3Cl$ (477,93)

Obliczono: 57,8% C, 5,9% H, 8,8% N, 7,4% Cl

Znaleziono: 7,4% Cl

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania aminokwasów zawierających dodatkową grupę zasadową i ich pochodnych, o częściowo chronionych grupach funkcyjnych, o ogólnym wzorze $Ac-X-CH(NH_2)-COOR$, w którym X oznacza grupę organiczną zawierającą zdolny do acylowania atom azotu zacylowany grupą o symbolu Ac, a R oznacza atom wodoru lub grupę alkilową o 1–5 atomach węgla oraz ich soli addycyjnych z kwasami względnie soli wewnątrz cząsteczkowych wolnych kwasów karboksylowych, z n a m i e n n y t y m, że α -aminokwas, zawierający dodatkową grupę zasadową, o ogólnym wzorze $H-X-CH(NH_2)COOH$, w którym X ma wyżej podane znaczenie, przeprowadza się w znany sposób w kompleksie z metalem, w którym grupy funkcyjne jak α -aminowa i karboksylowa są ochronione, korzystnie pochodną kompleksu miedziowego i otrzymany związek acyluje odpowiednim środkiem, korzystnie chlorkiem kwasowym o ogólnym wzorze $Ac-Cl$, w którym Ac oznacza resztę acylową, lub acyluje się odpowiednim związkiem zawierającym aktywną funkcjonalnie zmienioną grupę karboksylową i otrzymany zacylowany związek kompleksowy rozkłada w znany sposób i wytworzony związek o ogólnym wzorze $Ac-X-CH(NH_2)COOR$, w którym Ac i X mają wyżej podane znaczenie, a R oznacza atom wodoru ewentualnie estryfikuje się środkiem odpowiednim do wprowadzenia grupy alkilowej o 1–5 atomach węgla w znany sposób i/lub wytworzony produkt ewentualnie przeprowadza się w sól, zwłaszcza odpowiednią pod względem terapeutycznym.

2. Sposób według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że w przypadku wytwarzania ϵ -(p-chlorobenzylloksykarbonylo)-lizyny i jej pochodnych poddaje się lizynę o ogólnym wzorze $HX-CH(NH_2)-COOH$, reakcji z solą miedzi II i w wytworzonej pochodnej związku kompleksowego z metalem acyluje grupę ϵ -aminową za pomocą p-chlorobenzylloksykarbonylochorku, a następnie rozkłada zacylowany związek kompleksowy zwłaszcza siarkowodorem i wytworzony związek przeprowadza w ester alkilowy korzystnie za pomocą alkoholu o 1–5 atomach węgla zwłaszcza w obecności chlorku tionylu.