



(12) 发明专利申请

(10) 申请公布号 CN 116615435 A

(43) 申请公布日 2023.08.18

(21) 申请号 202180086210.5

(22) 申请日 2021.12.24

(30) 优先权数据

2020-217822 2020.12.25 JP

(85) PCT国际申请进入国家阶段日

2023.06.20

(86) PCT国际申请的申请数据

PCT/JP2021/048380 2021.12.24

(87) PCT国际申请的公布数据

W02022/138957 JA 2022.06.30

(71) 申请人 日产化学株式会社

地址 日本东京都

(72) 发明人 庄子武明 山口大希

(74) 专利代理机构 北京市中咨律师事务所

11247

专利代理师 田欣 段承恩

(51) Int.Cl.

C07K 5/062 (2006.01)

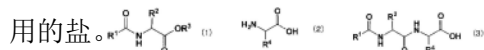
权利要求书3页 说明书12页

(54) 发明名称

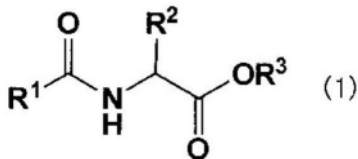
制备脂质肽的方法

(57) 摘要

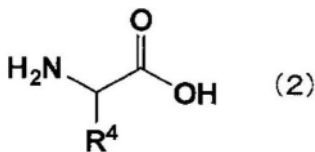
本发明提供一种不需要繁杂的操作,并且能够进行廉价地大规模生产的脂质肽化合物的实用制造方法。该方法是通过将式(1)表示的酯化化合物的非极性溶剂溶液与含有碱和式(2)表示的 α -氨基酸化合物的非极性溶剂溶液进行混合而制造式(3)表示的脂质肽化合物或其药学上可使用的盐。



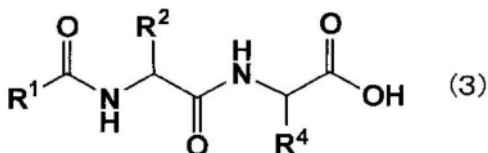
1. 式 (3) 表示的脂质肽化合物或其药学上可使用的盐的制造方法, 其特征在于, 具备将含有式 (1) 表示的酯化合物的非极性溶剂、和含有式 (2) 表示的 α -氨基酸化合物及碱的非极性有机溶剂进行混合的混合工序;



式中, R^1 表示碳原子数为 9~23 的脂肪族基团, R^2 表示氢原子、或可具有碳原子数为 1 或 2 的支链的碳原子数为 1~4 的烷基, R^3 表示碳原子数为 1~6 的烷基、碳原子数为 1~6 的卤代烷基、碳原子数为 1~6 的羟基烷基、或可以被碳原子数为 1~6 的烷基取代的芳基;



式中, R^4 是 $-(\text{CH}_2)_n-\text{X}$ 基, n 表示 1~4 的数, X 表示氨基、胍基、 $-\text{CONH}_2$ 基、或可具有 1~3 个氮原子的 5 元环或 6 元环或由 5 元环和 6 元环构成的稠杂环;



式中, R^1 、 R^2 及 R^4 表示以上定义过的基团。

2. 根据权利要求 1 所述的制造方法, 其特征在于, 所述非极性溶剂包含非极性有机溶剂和醇。

3. 根据权利要求 1 所述的制造方法, 所述式中, n 表示 1~4 的数, 且 X 表示氨基、胍基或 $-\text{CONH}_2$ 基, 或 n 表示 1, 且 X 表示吡咯基、咪唑基、吡啶基或咪唑基。

4. 根据权利要求 1 所述的制造方法, 所述式中, R^1 表示可具有 0~2 个不饱和键的碳原子数为 11~21 的直链结构或具备支链结构的脂肪族基团。

5. 根据权利要求 1 所述的制造方法, 所述式中, R^2 表示氢原子、或可具有碳原子数为 1 的支链的碳原子数为 1~3 的烷基。

6. 根据权利要求 1 所述的制造方法, 所述式中, R^2 表示氢原子、甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基或叔丁基, R^4 表示氨基甲基、氨基乙基、3-氨基丙基、4-氨基丁基、氨基甲酰基甲基、2-氨基甲酰基乙基、3-氨基甲酰基丁基、2-胍基乙基、3-胍基丙基、吡咯甲基、咪唑甲基、吡啶甲基或 3-吡啶甲基。

7. 根据权利要求 6 所述的制造方法, 所述式中, R^2 表示氢原子、甲基、异丙基、异丁基或仲丁基, R^4 表示 4-氨基丁基、氨基甲酰基甲基、2-氨基甲酰基乙基、3-胍基丙基、咪唑甲基或 3-吡啶甲基。

8. 根据权利要求 1 所述的制造方法, 所述式中, R^3 表示甲基或乙基。

9. 根据权利要求 1~8 中任一项所述的制造方法, 所述碱为选自碱金属、碱金属无机酸盐、碱金属氢氧化物、碱金属醇盐、脂环式胺、或它们的醇溶液、或它们的醇分散液中的至少 1 种。

10. 根据权利要求9所述的制造方法,所述碱为选自金属钠、金属钾、碳酸钠、碳酸钾、磷酸钾、磷酸钠、氢氧化钠、氢氧化钾、甲醇钠、乙醇钠、甲醇钾、乙醇钾、叔丁醇钾、1,8-二氮杂双环[5.4.0]-7-十一碳烯、1,5-二氮杂双环[4.3.0]-5-壬烯、或它们的醇溶液、或它们的醇分散液中的至少1种。

11. 根据权利要求10所述的制造方法,所述碱为甲醇钠、或其甲醇溶液、或其甲醇分散液。

12. 根据权利要求1~11中任一项所述的制造方法,所述非极性有机溶剂为选自芳香族化合物、饱和脂肪族化合物及不饱和脂肪族化合物中的至少1种。

13. 根据权利要求12所述的制造方法,所述非极性有机溶剂为选自甲苯、二甲苯、邻二氯苯、戊烷、己烷、庚烷、辛烷、环戊烷、环己烷、甲基环己烷、环庚烷和1-己烯中的至少1种。

14. 根据权利要求2所述的制备方法,所述非极性溶剂包含甲苯和、甲醇或乙醇。

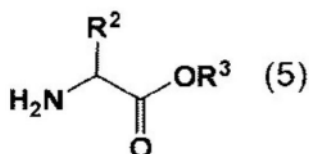
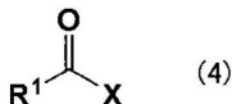
15. 根据权利要求1~14中任一项所述的制造方法,所述式(1)表示的酯化合物与所述式(2)表示的 α -氨基酸化合物的反应在 $70 \pm 5^\circ\text{C}$ 的反应温度下进行。

16. 根据权利要求1~15中任一项所述的制造方法,其包含使用卤化氢将通过所述式(1)表示的酯化合物与所述式(2)表示的 α -氨基酸化合物的反应而得到的产物调整为该脂质肽化合物的等电点,使该脂质肽析出的析出工序。

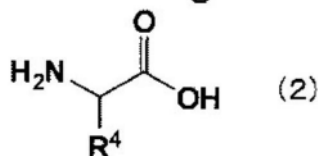
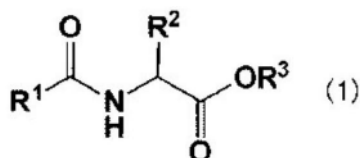
17. 根据权利要求16所述的制造方法,所述析出工序在 $40^\circ\text{C} \sim 70^\circ\text{C}$ 下进行。

18. 式(3)表示的脂质肽化合物或其药学上可使用的盐的制造方法,其特征在于,具备使式(4)表示的化合物和式(5)表示的化合物反应,得到式(1)表示的酯化合物的工序、及

将含有该式(1)表示的酯化合物的非极性溶剂、和含有式(2)表示的 α -氨基酸化合物及碱的非极性有机溶剂进行混合的混合工序;

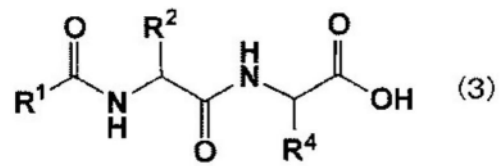


式中, R^2 表示氢原子、或可具有碳原子数为1或2的支链的碳原子数为1~4的烷基, R^3 表示碳原子数为1~6的烷基、碳原子数为1~6的卤代烷基、碳原子数为1~6的羟基烷基、或可以被碳原子数为1~6的烷基取代的芳基;



式中, R^4 表示氢原子、可以具有碳原子数为1~3的支链的碳原子数为1~7的烷基、苯基

甲基、苯基乙基、 $-(\text{CH}_2)_n\text{-X}$ 基, n 表示1~4的数, X 表示氨基、胍基、 $-\text{CONH}_2$ 基、或可具有1~3个氮原子的5元环或6元环或由5元环和6元环构成的稠杂环;



式中, R^1 , R^2 和 R^4 表示以上定义过的基团。

制备脂质肽的方法

技术领域

[0001] 本发明涉及脂质肽的制造方法。

背景技术

[0002] 近年来,作为脂质肽化合物,已提出了在棕榈酸等上键合甘氨酸、组氨酸的新型脂质肽作为水凝胶剂的应用,其提供方法变得重要(专利文献1)。

[0003] 另一方面,通常,作为脂质肽的制造方法,已公开了利用固相肽合成的方法,但只能应对少量的合成,难以大量制造。

[0004] 另一方面,本申请发明人已报道,迄今为止在使氨基酸的氨基与酯化合物进行酰胺化时,通过在碱的存在下、在包含非极性有机溶剂的溶剂中进行反应,可以不使用保护基而直接得到脂质肽化合物(专利文献2)。

[0005] 现有技术文献

[0006] 专利文献

[0007] 专利文献1:国际公开第2010/013555号

[0008] 专利文献2:国际公开第2011/027897号

发明内容

[0009] 发明所要解决的问题

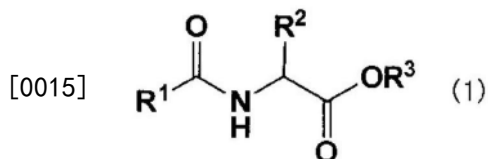
[0010] 本发明的目的在于提供与以往的制造方法相比,不需要更繁杂的操作、并且能够廉价地大量生产的脂质肽化合物的实用制造方法。

[0011] 解决问题的手段

[0012] 为了实现上述目的,本发明人反复进行了深入研究,结果发现,在使氨基酸的氨基与酯化合物进行酰胺化时,通过在碱的存在下、在包含非极性有机溶剂的溶剂中使其反应,可在不使用保护基的情况下直接得到脂质肽化合物,此时,将预先混合了氨基酸和碱而形成的溶液与酯溶液混合,从而以高收率得到脂质肽。另外,本发明人发现,将得到的脂质肽化合物在等电点进行分离会提高操作性,从而完成了本发明。

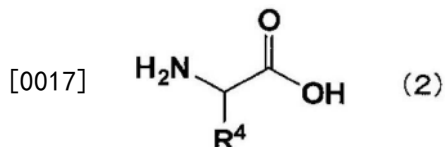
[0013] 即,本发明涉及:

[0014] [1]式(3)表示的脂质肽化合物或其药学上可使用的盐的制造方法,其特征在于,具备将含有式(1)表示的化合物的非极性溶剂、和含有式(2)表示的 α -氨基酸化合物及碱的非极性有机溶剂混合的混合工序;

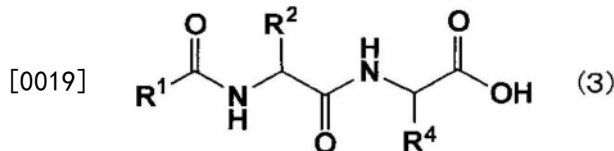


[0016] 式中, R^1 表示碳原子数为9~23的脂肪族基团, R^2 表示氢原子、或可具有碳原子数为1或2的支链的碳原子数为1~4的烷基, R^3 表示碳原子数为1~6的烷基、碳原子数为1~6的

卤代烷基、碳原子数为1~6的羟基烷基、或可以被碳原子数为1~6的烷基取代的芳基；



[0018] 式中, R^4 是 $-(CH_2)_n-X$ 基, n 表示1~4的数, X 表示氨基、胍基、 $-CONH_2$ 基、或可具有1~3个氮原子的5元环或6元环或由5元环和6元环构成的稠杂环；



[0020] 式中, R^1 、 R^2 及 R^4 表示以上定义过的基团。

[0021] [2] 根据[1]所述的制造方法, 其特征在于, 所述非极性溶剂包含非极性有机溶剂和醇。

[0022] [3] 根据[1]所述的制造方法, 所述 n 表示1~4的数, 且 X 表示氨基、胍基或 $-CONH_2$ 基, 或 n 表示1, 且 X 表示吡咯基、咪唑基、吡唑基或咪唑基。

[0023] [4] 根据[1]所述的制造方法, 所述式中, R^1 表示可具有0~2个不饱和键的碳原子数为11~21的直链结构或支链结构的脂肪族基团。

[0024] [5] 根据[1]所述的制造方法, 所述式中, R^2 表示氢原子、或可具有碳原子数为1的支链的碳原子数为1~3的烷基。

[0025] [6] 根据[1]所述的制造方法, 所述式中, R^2 表示氢原子、甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基或叔丁基, R^4 表示氨基甲基、氨基乙基、3-氨基丙基、4-氨基丁基、氨基甲酰基甲基、2-氨基甲酰基乙基、3-氨基甲酰基丁基、2-胍基乙基、3-胍基丙基、吡咯甲基、咪唑甲基、吡唑甲基或3-吡啶甲基。

[0026] [7] 根据[6]所述的制造方法, 所述式中, R^2 表示氢原子、甲基、异丙基、异丁基或仲丁基, R^4 表示4-氨基丁基、氨基甲酰基甲基、2-氨基甲酰基乙基、3-胍基丙基、咪唑甲基或3-吡啶甲基。

[0027] [8] 根据[1]所述的制造方法, 所述式中, R^3 表示甲基或乙基。

[0028] [9] 根据[1]~[8]中任一项所述的制造方法, 所述碱为选自碱金属、碱金属无机酸盐、碱金属氢氧化物、碱金属醇盐、脂环式胺、或它们的醇溶液、或它们的醇分散液中的至少1种。

[0029] [10] 根据[9]所述的制造方法, 所述碱为选自金属钠、金属钾、碳酸钠、碳酸钾、磷酸钾、磷酸钠、氢氧化钠、氢氧化钾、甲醇钠、乙醇钠、甲醇钾、乙醇钾、叔丁醇钾、1,8-二氮杂双环[5.4.0]-7-十一碳烯、1,5-二氮杂双环[4.3.0]-5-壬烯、或它们的醇溶液、或它们的醇分散液中的至少1种。

[0030] [11] 根据[10]所述的制造方法, 所述碱为甲醇钠、或其甲醇溶液、或其甲醇分散液。

[0031] [12] 根据[1]~[11]中任一项所述的制造方法, 所述非极性有机溶剂为选自芳香族化合物、饱和脂肪族化合物及不饱和脂肪族化合物中的至少1种。

[0032] [13] 根据[12]所述的制造方法, 所述非极性有机溶剂为选自甲苯、二甲苯、邻二氯苯、戊烷、己烷、庚烷、辛烷、环戊烷、环己烷、甲基环己烷、环庚烷和1-己烯中的至少1种。

[0033] [14]根据[2]所述的制备方法,所述非极性溶剂包含甲苯和、甲醇或乙醇。

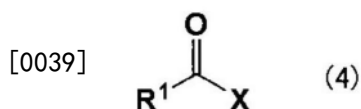
[0034] [15]根据[1]~[14]中任一项所述的制造方法,所述式(1)表示的酯化合物与所述式(2)表示的 α -氨基酸化合物的反应在 $70\pm 5^\circ\text{C}$ 的反应温度下进行。

[0035] [16]根据[1]~[15]中任一项所述的制造方法,其包含使用卤化氢将通过所述式(1)表示的酯化合物与所述式(2)表示的 α -氨基酸化合物的反应而得到的产物调整为该脂质肽化合物的等电点,使该脂质肽析出的析出工序。

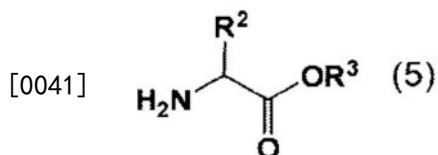
[0036] [17]根据[16]所述的制造方法,所述析出工序在 $40^\circ\text{C}\sim 70^\circ\text{C}$ 下进行。

[0037] [18]式(3)表示的脂质肽化合物或其药学上可使用的盐的制造方法,其特征在于,具备使式(4)表示的化合物和式(5)表示的化合物反应,得到式(1)表示的酯化合物的工序、及

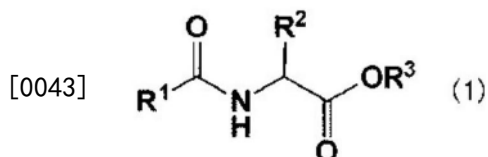
[0038] 将含有该式(1)表示的化合物的非极性溶剂、和含有式(2)表示的 α -氨基酸化合物及碱的非极性有机溶剂混合的混合工序;



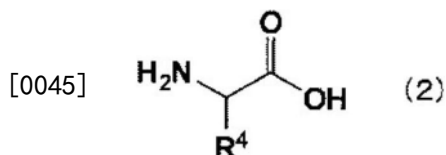
[0040] 式中,X表示卤素原子、碳原子数为1~6的烷氧基、 $-\text{OC}(\text{O})\text{R}^1$ 基, R^1 表示碳原子数为9~23的脂肪族基团;



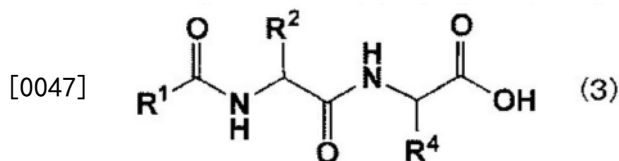
[0042] 式中, R^2 表示氢原子、或可具有碳原子数为1或2的支链的碳原子数为1~4的烷基, R^3 表示碳原子数为1~6的烷基、碳原子数为1~6的卤代烷基、碳原子数为1~6的羟基烷基、或可以被碳原子数为1~6的烷基取代的芳基;



[0044] 式中, R^1 , R^2 和 R^3 表示以上定义过的基团;



[0046] 式中, R^4 表示氢原子、可以具有碳原子数为1~3的支链的碳原子数为1~7的烷基、苯基甲基、苯基乙基、 $-(\text{CH}_2)_n-\text{X}$ 基,n表示1~4的数,X表示氨基、胍基、 $-\text{CONH}_2$ 基、或可具有1~3个氮原子的5元环或6元环或由5元环和6元环构成的稠杂环;



[0048] 式中, R^1 , R^2 和 R^4 表示以上定义过的基团。

[0049] 发明效果

[0050] 通过本发明的制造方法,能够以高收率得到所期望的脂质肽化合物。

[0051] 另外,本发明的制造方法不伴有所使用的氨基酸的外消旋化,不需要繁杂的保护、脱保护操作,并且不使用缩合剂这样的昂贵试剂,因此是可以作为工业制造法利用的实用制造方法。

[0052] 进而,根据本发明,即使在因作为对象的脂质肽化合物具有凝胶化能力而难以进行游离体分离的情况下也能够应用。

具体实施方式

[0053] 如上所述,作为脂质肽化合物的制造方法,已提出了各种方法,但需求能够在不需要官能团的保护、脱保护的繁杂操作、昂贵的缩合剂、保护基的试剂的情况下大量制造的方法。

[0054] 针对上述课题,本发明人发现,首先在式(1)表示的酯化合物的制造中,通过使用 R^3 作为保护基,以求实现产物的收率、操作性的提高,并且将作为其结果而形成的 $-OR^3$,在接下来与式(2)表示的 α -氨基酸化合物的酰胺化中作为离去基团使用,就会成为经济上优异、废弃物少、环境负荷少的制造方法。

[0055] 进而,使用非极性溶剂和醇作为反应溶剂,在加热的条件下和形成大致均匀的混合溶剂的状态下进行反应,反应结束后作为产物的脂质肽化合物的盐(碱金属盐等)析出。通过过滤可以有效地获得产物的盐。

[0056] 而且,通过使用非极性溶剂,与迄今为止脂质肽化合物的制造中使用的DMF、水等的情况不同,可以在反应结束、冷却后防止凝胶化。而且,对于反应后的液性(碱性),通过使用中和所需量的氯化氢水溶液就可以不伴有凝胶化地完成中和,容易回收游离体。

[0057] 根据以上发现,可以在不同时发生所使用的氨基酸的外消旋化的情况下简便而高收率地合成脂质肽化合物,从而完成了本发明。

[0058] 以下,对本发明进行更详细地说明。

[0059] 需要说明的是,在本说明书中,“n”表示正,“i”表示异,“s”或“sec”表示仲,“t”或“tert”表示叔,“c”表示环,“o”表示邻位,“m”表示间位,“p”表示对位,“Me”表示甲基,“Bu”表示丁基,“tBu”表示叔丁基。

[0060] 在上述式(1)中, R^1 表示碳原子数为9~23的脂肪族基团,优选 R^1 为具有碳原子数为11~21的直链结构或支链结构的脂肪族基团或具有1或2个不饱和键的碳原子数为11~21的直链状脂肪族基团。

[0061] 此处,作为特别优选的 R^1 所表示的脂肪族基团的具体例子,可以列举壬基、癸基、十一烷基、十二烷基(月桂基)、十三烷基、十四烷基(肉豆蔻基)、十五烷基、十六烷基(棕榈基)、十七烷基(十七烷基)、十八烷基(硬脂基)、十九烷基、二十烷基、二十一烷基等。

[0062] 在上述式(1)中, R^2 表示氢原子、或可以具有碳原子数为1或2的支链的碳原子数为1~4的烷基。

[0063] 上述 R^2 中的可以具有碳原子数为1或2的支链的碳原子数为1~4的烷基是指,主链的碳原子数为1~4、且可以具有碳原子数为1或2的支链的烷基,作为其具体例子,可以列举

甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基或叔丁基等。

[0064] R^2 优选为氢原子、或可以具有碳原子数为1的支链的碳原子数为1~3的烷基,更优选为氢原子。所谓可以具有碳原子数为1的支链的碳原子数为1~3的烷基是指,主链的碳原子数为1~3、且可以具有碳原子数为1的支链的烷基,作为其具体例子,可以列举甲基、乙基、正丙基、异丙基、异丁基或仲丁基等,优选为甲基、异丙基、异丁基或仲丁基。

[0065] 在上述式(1)中, R^3 表示碳原子数为1~6的烷基、碳原子数为1~6的卤代烷基、碳原子数为1~6的羟基烷基、或可以被碳原子数为1~6的烷基取代的芳基。

[0066] 此处,作为特别优选的 R^3 所表示的烷基的具体例子,可以列举甲基、乙基、正丙基、异丙基、正丁基、异丁基、仲丁基或叔丁基等,更优选为甲基或乙基。

[0067] 在上述式(2)中, R^4 表示氢原子、可以具有碳原子数为1~3的支链的碳原子数为1~7的烷基、苯基甲基、苯基乙基、 $-(CH_2)_n-X$ 基,优选为 $-(CH_2)_n-X$ 基。

[0068] 在上述 $-(CH_2)_n-X$ 基中, n 表示1~4的数, X 表示氨基、胍基、 $-CONH_2$ 基、或可以具有1~3个氮原子的5元环或6元环、或由5元环和6元环构成的稠杂环。

[0069] 在上述 $-(CH_2)_n-X$ 基中, X 优选为氨基、胍基、 $-CONH_2$ 基、吡咯基、咪唑基、吡唑基或吡啶基,更优选为咪唑基。另外,在上述 $-(CH_2)_n-$ 基中, n 优选为1或2,更优选为1。

[0070] 因此,上述 $-(CH_2)_n-$ 基团优选表示氨基甲基、2-氨基乙基、3-氨基丙基、4-氨基丁基、氨基甲酰基甲基、2-氨基甲酰基乙基、3-氨基甲酰基丁基、2-胍基乙基、3-胍基丙基、吡咯甲基、咪唑甲基、吡唑甲基、或3-吡啶甲基,更优选表示4-氨基丁基、氨基甲酰基甲基、2-氨基甲酰基乙基、3-胍基丙基、咪唑甲基或3-吡啶甲基,进一步优选为咪唑甲基。

[0071] 因此,在上述式(3)表示的脂质肽化合物中,作为特别优选的化合物的具体例子,可以列举以下的由脂质部分和二肽部分形成的化合物。需要说明的是,作为氨基酸的简称,使用组氨酸(His)、甘氨酸(Gly)、缬氨酸(Val)、异亮氨酸(Ile)、丙氨酸(Ala)、精氨酸(Arg)、天冬酰胺(Asn)、谷氨酰胺(Gln)、亮氨酸(Leu)、赖氨酸(Lys)、色氨酸(Trp)。

[0072] N-月桂酰基-Gly-His、N-月桂酰基-Gly-Trp、N-月桂酰基-Gly-Gln、N-月桂酰基-Gly-Asn、N-月桂酰基-Gly-Arg、N-月桂酰基-Gly-Lys、N-月桂酰基-Ala-His、N-月桂酰基-Ala-Trp、N-月桂酰基-Ala-Gln、N-月桂酰基-Ala-Asn、N-月桂酰基-Ala-Arg、N-月桂酰基-Ala-Lys、N-月桂酰基-Val-His、N-月桂酰基-Val-Trp、N-月桂酰基-Val-Gln、N-月桂酰基-Val-Asn、N-月桂酰基-Val-Arg、N-月桂酰基-Val-Lys、N-月桂酰基-Leu-His、N-月桂酰基-Leu-Trp、N-月桂酰基-Leu-Gln、N-月桂酰基-Leu-Asn、N-月桂酰基-Leu-Arg、N-月桂酰基-Leu-Lys、N-月桂酰基-Ile-His、N-月桂酰基-Ile-Trp、N-月桂酰基-Ile-Gln、N-月桂酰基-Ile-Asn、N-月桂酰基-Ile-Arg、N-月桂酰基-Ile-Lys、N-肉豆蔻酰基-Gly-His、N-肉豆蔻酰基-Gly-Trp、N-肉豆蔻酰基-Gly-Gln、N-肉豆蔻酰基-Gly-Asn、N-肉豆蔻酰基-Gly-Arg、N-肉豆蔻酰基-Gly-Lys、N-肉豆蔻酰基-Ala-His、N-肉豆蔻酰基-Ala-Trp、N-肉豆蔻酰基-Ala-Gln、N-肉豆蔻酰基-Ala-Asn、N-肉豆蔻酰基-Ala-Arg、N-肉豆蔻酰基-Ala-Lys、N-肉豆蔻酰基-Val-His、N-肉豆蔻酰基-Val-Trp、N-肉豆蔻酰基-Val-Gln、N-肉豆蔻酰基-Val-Asn、N-肉豆蔻酰基-Val-Arg、N-肉豆蔻酰基-Val-Lys、N-肉豆蔻酰基-Leu-His、N-肉豆蔻酰基-Leu-Trp、N-肉豆蔻酰基-Leu-Gln、N-肉豆蔻酰基-Leu-Asn、N-肉豆蔻酰基-Leu-Arg、N-肉豆蔻酰基-Leu-Lys、N-肉豆蔻酰基-Ile-His、N-肉豆蔻酰基-Ile-Trp、N-肉豆蔻酰基-Ile-Gln、N-肉豆蔻酰基-Ile-Asn、N-肉豆蔻酰基-Ile-Arg、N-肉豆蔻酰基-Ile-Lys、N-棕榈

Ile-Lys、N-花生酰基-Gly-His、N-花生酰基-Gly-Trp、N-花生酰基-Gly-Gln、N-花生酰基-Gly-Asn、N-花生酰基-Gly-Arg、N-花生酰基-Gly-Lys、N-花生酰基-Ala-His、N-花生酰基-Ala-Trp、N-花生酰基-Ala-Gln、N-花生酰基-Ala-Asn、N-花生酰基-Ala-Arg、N-花生酰基-Ala-Lys、N-花生酰基-Val-His、N-花生酰基-Val-Trp、N-花生酰基-Val-Gln、N-花生酰基-Val-Asn、N-花生酰基-Val-Arg、N-花生酰基-Val-Lys、N-花生酰基-Leu-His、N-花生酰基-Leu-Trp、N-花生酰基-Leu-Gln、N-花生酰基-Leu-Asn、N-花生酰基-Leu-Arg、N-花生酰基-Leu-Lys、N-花生酰基-Ile-His、N-花生酰基-Ile-Trp、N-花生酰基-Ile-Gln、N-花生酰基-Ile-Asn、N-花生酰基-Ile-Arg、N-花生酰基-Ile-Lys、N-山嵛酰基-Gly-His、N-山嵛酰基-Gly-Trp、N-山嵛酰基-Gly-Gln、N-山嵛酰基-Gly-Asn、N-山嵛酰基-Gly-Arg、N-山嵛酰基-Gly-Lys、N-山嵛酰基-Ala-His、N-山嵛酰基-Ala-Trp、N-山嵛酰基-Ala-Gln、N-山嵛酰基-Ala-Asn、N-山嵛酰基-Ala-Arg、N-山嵛酰基-Ala-Lys、N-山嵛酰基-Val-His、N-山嵛酰基-Val-Trp、N-山嵛酰基-Val-Gln、N-山嵛酰基-Val-Asn、N-山嵛酰基-Val-Arg、N-山嵛酰基-Val-Lys、N-山嵛酰基-Leu-His、N-山嵛酰基-Leu-Trp、N-山嵛酰基-Leu-Gln、N-山嵛酰基-Leu-Asn、N-山嵛酰基-Leu-Arg、N-山嵛酰基-Ile-His、N-山嵛酰基-Ile-Trp、N-山嵛酰基-Ile-Gln、N-山嵛酰基-Ile-Asn、N-山嵛酰基-Ile-Arg、N-山嵛酰基-Ile-Lys。

[0073] 在上述化合物中,作为更优选的脂质肽化合物,可以列举N-月桂酰基-Gly-His、N-月桂酰基-Gly-Trp、N-月桂酰基-Gly-Gln、N-月桂酰基-Gly-Asn、N-月桂酰基-Gly-Lys、N-月桂酰基-Ala-His、N-月桂酰基-Ala-Trp、N-月桂酰基-Ala-Gln、N-月桂酰基-Ala-Asn、N-月桂酰基-Ala-Lys、N-月桂酰基-Val-His、N-月桂酰基-Val-Trp、N-月桂酰基-Val-Gln、N-月桂酰基-Val-Asn、N-月桂酰基-Val-Lys、N-肉豆蔻酰基-Gly-His、N-肉豆蔻酰基-Gly-Trp、N-肉豆蔻酰基-Gly-Gln、N-肉豆蔻酰基-Gly-Asn、N-肉豆蔻酰基-Gly-Lys、N-肉豆蔻酰基-Ala-His、N-肉豆蔻酰基-Ala-Trp、N-肉豆蔻酰基-Ala-Gln、N-肉豆蔻酰基-Ala-Asn、N-肉豆蔻酰基-Ala-Lys、N-肉豆蔻酰基-Val-His、N-肉豆蔻酰基-Val-Trp、N-肉豆蔻酰基-Val-Gln、N-肉豆蔻酰基-Val-Asn、N-肉豆蔻酰基-Val-Lys、N-棕榈酰基-Gly-His、N-棕榈酰基-Gly-Trp、N-棕榈酰基-Gly-Gln、N-棕榈酰基-Gly-Asn、N-棕榈酰基-Gly-Lys、N-棕榈酰基-Ala-His、N-棕榈酰基-Ala-Trp、N-棕榈酰基-Ala-Gln、N-棕榈酰基-Ala-Asn、N-棕榈酰基-Ala-Lys、N-棕榈酰基-Val-His、N-棕榈酰基-Val-Trp、N-棕榈酰基-Val-Gln、N-棕榈酰基-Val-Asn、N-棕榈酰基-Val-Lys、N-十七烷酰基-Gly-His、N-十七烷酰基-Gly-Trp、N-十七烷酰基-Gly-Gln、N-十七烷酰基-Gly-Asn、N-十七烷酰基-Gly-Lys、N-十七烷酰基-Ala-His、N-十七烷酰基-Ala-Trp、N-十七烷酰基-Ala-Gln、N-十七烷酰基-Ala-Asn、N-十七烷酰基-Ala-Lys、N-十七烷酰基-Val-His、N-十七烷酰基-Val-Trp、N-十七烷酰基-Val-Gln、N-十七烷酰基-Val-Asn、N-十七烷酰基-Val-Lys、N-十七烷酰基-Gly-His、N-十七烷酰基-Gly-Trp、N-十七烷酰基-Gly-Gln、N-十七烷酰基-Gly-Asn、N-十七烷酰基-Gly-Lys、N-十七烷酰基-Ala-His、N-十七烷酰基-Ala-Trp、N-十七烷酰基-Ala-Gln、N-十七烷酰基-Ala-Asn、N-十七烷酰基-Ala-Lys、N-十七烷酰基-Val-His、N-十七烷酰基-Val-Trp、N-十七烷酰基-Val-Gln、N-十七烷酰基-Val-Asn、N-十七烷酰基-Val-Lys、N-硬脂酰基-Gly-His、N-硬脂酰基-Gly-Trp、N-硬脂酰基-Gly-Gln、N-硬脂酰基-Gly-Asn、N-硬脂酰基-Gly-Lys、N-硬脂酰基-Ala-His、N-硬脂酰基-Ala-Trp、N-硬脂酰基-Ala-Gln、N-硬脂酰基-Ala-Asn、N-硬

脂酰基-Ala-Lys、N-硬脂酰基-Val-His、N-硬脂酰基-Val-Trp、N-硬脂酰基-Val-Gln、N-硬脂酰基-Val-Asn、N-硬脂酰基-Val-Lys、N-反油酰基-Gly-His、N-反油酰基-Gly-Trp、N-反油酰基-Gly-Gln、N-反油酰基-Gly-Asn、N-反油酰基-Gly-Lys、N-反油酰基-Ala-His、N-反油酰基-Ala-Trp、N-反油酰基-Ala-Gln、N-反油酰基-Ala-Asn、N-反油酰基-Ala-Lys、N-反油酰基-Val-His、N-反油酰基-Val-Trp、N-反油酰基-Val-Gln、N-反油酰基-Val-Asn、N-反油酰基-Val-Lys、N-花生酰基-Gly-His、N-花生酰基-Gly-Trp、N-花生酰基-Gly-Gln、N-花生酰基-Gly-Asn、N-花生酰基-Gly-Lys、N-花生酰基-Ala-His、N-花生酰基-Ala-Trp、N-花生酰基-Ala-Gln、N-花生酰基-Ala-Asn、N-花生酰基-Ala-Lys、N-花生酰基-Val-His、N-花生酰基-Val-Trp、N-花生酰基-Val-Gln、N-花生酰基-Val-Asn、N-花生酰基-Val-Lys、N-山嵛酰基-Gly-His、N-山嵛酰基-Gly-Trp、N-山嵛酰基-Gly-Gln、N-山嵛酰基-Gly-Asn、N-山嵛酰基-Gly-Lys、N-山嵛酰基-Ala-His、N-山嵛酰基-Ala-Trp、N-山嵛酰基-Ala-Gln、N-山嵛酰基-Ala-Asn、N-山嵛酰基-Ala-Lys、N-山嵛酰基-Val-His、N-山嵛酰基-Val-Trp、N-山嵛酰基-Val-Gln、N-山嵛酰基-Val-Asn、N-山嵛酰基-Val-Lys。

[0074] 作为最优选的化合物,可以列举N-月桂酰基-Gly-His、N-月桂酰基-Gly-Gln、N-月桂酰基-Gly-Asn、N-月桂酰基-Gly-Lys、N-肉豆蔻酰基-Gly-His、N-肉豆蔻酰基-Gly-Gln、N-肉豆蔻酰基-Gly-Asn、N-肉豆蔻酰基-Gly-Lys、N-棕榈酰基-Gly-His、N-棕榈酰基-Gly-Trp、N-棕榈酰基-Gly-Gln、N-棕榈酰基-Gly-Asn、N-棕榈酰基-Gly-Lys、N-棕榈酰基-Ala-His、N-棕榈酰基-Ala-Trp、N-棕榈酰基-Ala-Gln、N-棕榈酰基-Ala-Asn、N-棕榈酰基-Ala-Lys、N-棕榈酰基-Val-His、N-棕榈酰基-Val-Trp、N-棕榈酰基-Val-Gln、N-棕榈酰基-Val-Asn、N-棕榈酰基-Val-Lys、N-十七烷酰基-Gly-His、N-十七烷酰基-Gly-Gln、N-十七烷酰基-Gly-Asn、N-十七烷酰基-Gly-Lys、N-十七烷酰基-Gly-His、N-十七烷酰基-Gly-Gln、N-十七烷酰基-Gly-Asn、N-十七烷酰基-Gly-Lys、N-硬脂酰基-Gly-His、N-硬脂酰基-Gly-Gln、N-硬脂酰基-Gly-Asn、N-硬脂酰基-Gly-Lys、N-反油酰基-Gly-His、N-反油酰基-Gly-Gln、N-反油酰基-Gly-Asn、N-反油酰基-Gly-Lys、N-花生酰基-Gly-His、N-花生酰基-Gly-Gln、N-花生酰基-Gly-Asn、N-花生酰基-Gly-Lys、N-山嵛酰基-Gly-His、N-山嵛酰基-Gly-Gln、N-山嵛酰基-Gly-Asn、N-山嵛酰基-Gly-Lys。另外,作为具有支链结构的脂质肽,可以列举N-2-(4,4-二甲基戊烷-2-基)-5,7,7-三甲基辛酰基-Gly-His、N-2-庚基十一烷酰基-Gly-His。

[0075] 作为上述式(1)表示的酯化合物与上述式(2)表示的 α -氨基酸化合物的反应中使用的碱,没有特别限制,可以列举例如,金属钠、金属钾等碱金属;碳酸钠、碳酸钾、磷酸钾、磷酸钠等碱金属无机酸盐;氢氧化钠、氢氧化钾等碱金属氢氧化物;甲醇钠、叔丁醇钾等碱金属醇盐;三乙胺、三正丁胺等脂肪族胺;1,8-二氮杂双环[5.4.0]-7-十一碳烯(以下也称为DBU)、1,5-二氮杂双环[4.3.0]-5-壬烯(以下也称为DBN)等脂环式胺;吡啶、2-甲基-5-乙基吡啶等芳香族胺等、以及这些碱(固体)化合物的醇溶液或醇分散液等。它们可以单独使用1种,或组合使用2种以上。

[0076] 在以上的碱中,如果考虑提高转化率而进一步提高目标物的收率,则优选甲醇钠、乙醇钠、甲醇钾、乙醇钾、叔丁醇钾、DBU或DBN,优选甲醇钠或这些金属醇盐的醇溶液或醇分散液。

[0077] 甲醇钠可以为固体、甲醇溶液、甲醇分散液中的任意一种,另外,也可以使用金属

钠和甲醇事先制备而使用,或者在反应体系中制备而使用。考虑到可操作性和产率,优选使用市售的甲醇钠在甲醇中的约28%溶液。

[0078] 碱的使用量没有特别限制,通常相对于式(1)的化合物为1当量~10当量左右,优选为1当量~5当量、更优选为1.3当量~2当量。

[0079] 上述反应中使用的溶剂中所含的非极性有机溶剂没有特别限制,可以从一般的有机合成中使用的各种溶剂中适当选择不影响反应的溶剂而使用。

[0080] 作为其具体例子,可以列举戊烷、环戊烷、己烷、环己烷、甲基环己烷、庚烷、环庚烷、辛烷、癸烷、十氢化萘等饱和脂肪族烃化合物;1-己烯、1-辛烯等不饱和脂肪族烃化合物;苯、甲苯、二甲苯、邻二氯苯等芳香族烃化合物等。这些溶剂可以单独使用1种或组合使用2种以上。

[0081] 在这些非极性有机溶剂中,如果考虑防止式(1)表示的酯化合物的水解、提高转化率而进一步提高目标物的收率,则优选选自甲苯、二甲苯、邻二氯苯、戊烷、己烷、庚烷、辛烷、环戊烷、环己烷、甲基环己烷、环庚烷和1-己烯中的至少1种,特别优选甲苯。

[0082] 在上述反应中使用的溶剂中,除了上述非极性溶剂以外,优选还含有醇。作为此处使用的醇,没有特别限制,可以从一般的有机合成中使用的各种醇溶剂中适当选择使用不影响反应的醇溶剂。

[0083] 作为其具体例子,可以列举甲醇、乙醇、正丙醇、异丙醇、正丁醇、异丁醇、仲丁醇、叔丁醇、正戊醇、异戊醇、仲戊醇、叔戊醇、正己醇、异己醇、仲己醇、叔己醇、辛醇、癸醇、乙二醇、1,3-丁二醇、甘油等。这些溶剂可以单独使用1种或组合使用2种以上。

[0084] 对于上述式(1)表示的酯化合物与上述式(2)表示的 α -氨基酸化合物的反应温度,只要是使用的溶剂的沸点以下,则可以在任意温度下实施,如果考虑在短时间内收率良好地得到目标物,则优选20℃~150℃,更优选40℃~80℃,进一步优选65℃~75℃。

[0085] 反应时间根据反应温度、使用的碱和有机溶剂种类而变动,因此不能一概而论,通常为1~48小时左右。

[0086] 关于反应的形式,也可以将试剂在室温下全部混合后加热至反应温度,也可以通过滴加所需的试剂来进行反应的控制。另外,也可以以间歇式、连续式、减压、常压、加压下的任一形式实施。更优选在常压下滴加碱的形式。

[0087] 反应结束后,由于脂质肽化合物的盐析出,因此通过过滤来取出。此处,考虑到分离容易性,作为脂质肽化合物的盐,优选碱金属盐。

[0088] 然后,使得到的脂质肽化合物的盐溶解于水中,优选在水中添加卤化氢直至达到预先算出的等电点的pH。用来调节pH。例如,在上述式(1)表示的酯化合物与式(2)表示的 α -氨基酸化合物的反应后,过滤析出的脂质肽化合物的盐,使其再溶解于水后,添加卤化氢的溶液而进行pH调节。等电点也称为等电位点,是在该分子的酸碱解离状态下,形式电荷变为零的pH的值。等电点的值可以由该分子的酸解离常数(pKa)算出,例如,可以使用ChemAxon公司制的计算软件Calculator Plugins,由该分子的结构算出。另外,也可以由实际测定的Zeta电位的值算出等电点。

[0089] 对于上述中和操作中使用的卤化氢,通常由于操作容易而以水溶液的形式使用,例如可以列举盐酸、氢溴酸等,优选为盐酸。需要说明的是,使用卤化氢进行pH调节时,如果超过pH调节所需的必要量,则此时会形成脂质肽的盐酸盐,游离体的回收率减少,因此需要

- [0113] NMR: JNM-ECP300 (日本电子株式会社制)
- [0114] pH计: メトラートレド制
- [0115] HPLC分析条件如下所示。
- [0116] 柱: Inertsil ODS-3 (GL sciences制)
- [0117] 展开溶剂: MeOH/磷酸缓冲液 (pH=2.1) = 85/15 (容积比)
- [0118] *磷酸缓冲液 (pH=2.1) 的制法
- [0119] 在磷酸二氢钠 (NaH)₂PO₄·2H₂O 7.8g (50mmol)、85%磷酸3.4mL (50mmol) 中加入水, 使总量为1L。
- [0120] 烘箱温度: 40℃
- [0121] 检测法: UV205nm
- [0122] 流速: 2.0mL/分钟
- [0123] 注入量: 20μL
- [0124] 保留时间: N-棕榈酰基-Gly-His-甲基…5.0分钟、N-棕榈酰基-Gly-His…5.5分钟、N-棕榈酰基-Gly…9.3分钟、N-棕榈酰基-Gly-甲基…11.2分钟
- [0125] [实施例1] N-棕榈酰基-Gly-甲基的合成
- [0126] 在1000L反应罐中加入甘氨酸甲酯盐酸盐19.0kg (151mol)、水64kg, 加入作为碱的碳酸钠14.2kg (134mol)、水96kg和作为有机溶剂的甲苯128kg, 进行搅拌。然后, 在反应温度25±5℃下用1小时向其中滴加棕榈酰氯32.0kg (116mol), 结果析出白色的固体, 形成浆料。在25℃下搅拌3小时后, 追加10%食盐水320kg, 在60℃下进行分液操作。向得到的有机层中追加甲苯256kg, 进行共沸脱水, 得到N-棕榈酰基-Gly-甲基的甲苯溶液295.7kg (收率94%)。
- [0127] ※NMR测定溶剂去除。
- [0128] • ¹H-NMR (300MHz, MeOH-d₄, δppm) : 3.97 (2H, s), 3.71 (3H, s), 2.23 (2H, t, J=7.4Hz), 1.61 (2H, m), 1.28 (24H, m), 0.89 (3H, t, J=6.8Hz)
- [0129] • MS (ESI) m/z: 327.78 (M⁺)
- [0130] • 熔点: 78.1℃
- [0131] [实施例2] N-棕榈酰基-Gly-His游离体的合成
- [0132] 向500L反应罐中加入组氨酸17.0kg (110mol) 和甲苯716kg, 滴加作为碱的甲醇钠的28%甲醇溶液20.0kg (104mol), 将实施例1中得到的N-棕榈酰基-Gly-甲基的甲苯溶液共沸脱水后, 与甲醇14.3kg一起加入, 升温至70℃。然后, 开始滴加作为碱的甲醇钠的28%甲醇溶液7.4kg (38mol), 在约70℃下继续搅拌16小时。将反应结束后的浆料冷却并进行过滤, 将得到的N-棕榈酰基-Gly-His钠盐在40℃下进行减压干燥。
- [0133] 将得到的N-棕榈酰基-Gly-His钠盐用甲苯30.7kg、水1181.7kg进行溶解, 升温至60℃。用35%盐酸调制成pH4.5并进行中和, 由此使N-棕榈酰基-Gly-His游离体的粗结晶析出, 冷却后进行过滤, 在80℃下减压干燥, 得到粗结晶48.2kg。
- [0134] [实施例3]
- [0135] 在干燥后的粗结晶中加入甲苯408.0kg、甲醇244.8kg, 升温至60℃使其溶解后, 加入四氢呋喃163.2kg进行冷却, 过滤析出的结晶, 在80℃下减压干燥, 由此得到N-棕榈酰基-Gly-His游离体的白色结晶37.9g (纯度99.3%、收率95.7%)。

- [0136] • $^1\text{H-NMR}$ (300MHz, DMSO- d_6 , δ_{ppm}) : 8.12 (1H, d, $J=7.8\text{Hz}$) , 8.06 (1H, t, $J=5.7\text{Hz}$) , 7.56 (1H, s) , 6.81 (1H, s) , 4.38 (1H, q, $J=7.8\text{Hz}$) , 3.69 (2H, dd, $J=5.7\text{Hz}$ 和 $J=10.2\text{Hz}$) , 2.89 (2H, m) , 2.20 (2H, t, $J=6.9\text{Hz}$) , 1.48 (2H, m) , 1.23 (24H, s) , 0.85 (3H, t, $J=7.2\text{Hz}$)
- [0137] • MS (EI) m/z : 451.43 ($M^+ + 1$) 。