

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

53113

Patent dodatkowy
do patentu

Zgłoszono: 12.X.1964 (P 105 959)

Pierwszeństwo: 14.X.1963 Szwajcaria

Opublikowano: 26.VI.1967

Kl. 12 q, 6/01

MKE

C 07 c

103/52

CZYTELNIA

UKD

Urzędu Patentowego
Polskiej Rzeczypospolitej

Twórca wynalazku: Karl Vogler

Właściciel patentu: F. Hoffmann — La Roche & Co Aktiengesellschaft,
Bazylea (Szwajcaria)

Sposób wytwarzania estrów aminokwasów lub peptydów o właściwościach bakteriobójczych

1

Wynalazek dotyczy sposobu wytwarzania estrów o ogólnym wzorze Ac-OR, w którym R oznacza rodnik węglowodorowy o długim łańcuchu, zawierającym co najmniej 8 atomów węgla a Ac oznacza acyl dowolnego, zasadowego kwasu α -aminomonokarboksylowego lub dwu- lub trójpeptydu tego kwasu.

Oznaczona symbolem R reszta węglowodorowa o długim łańcuchu, zawierającym co najmniej 8 atomów węgla, może być nasycona lub nienasycona, prosta lub rozgałęziona korzystnie o długości łańcucha 10—20, a zwłaszcza 10—16 atomów węgla. Najkorzystniejszymi resztami R są grupy alkilowe: n-decyłowa, n-oktadecylowa, n-eikozylowa, a zwłaszcza n-tetradecylowa i n-heksadecylowa lub też n-oktyłowa. Pod określeniem zasadowe kwasy α -aminokarboksylowe należy rozumieć takie kwasy α -aminomonokarboksylowe, które oprócz grupy α -aminowej zawierają jeszcze co najmniej jedną grupę zasadową, taką jak na przykład grupa iminowa (na przykład w histydynie), a zwłaszcza jeszcze jedną grupę aminową, jak to ma miejsce w kwasach dwuaminomonokarboksylowych. Przykładami takich kwasów dwuaminomonokarboksylowych są: kwas α,γ -dwuaminopropionowy, kwas α,γ -dwuaminomasłowy, ornityna, lizyna i arginina. W argininie jedna grupa aminowa występuje jako część grupy guanidynowej ($\text{NH}-\text{C}(\text{NH})-\text{NH}_2$). Najkorzystniejszymi przedstawicielami takich zasadowych kwasów α -aminomonokarboksylowych

2

są występujące w przyrodzie aminokwasy protein, a zwłaszcza lizyna. Zasadowe kwasy α -aminomonokarboksylowe mogą występować w postaci racemicznej (d, l) lub optycznie czynnej (postać d lub l). Korzystniejsze są odmiany o konfiguracji l. Przykładem estrów o długich łańcuchach występujących w postaci l, w których Ac oznacza acyl zasadowego kwasu α -aminomonokarboksylowego są: ester n-oktyłowy l-lizyny, ester n-dodecyłowy l-ornityny, ester n-decyłowy l-lizyny, ester n-tetradecylowy l-lizyny i ester n-heksadecylowy l-lizyny.

Drugą grupę produktów wytwarzanych według wynalazku stanowią długołańcuchowe estry zasadowych dwupeptydów, to znaczy takie związki, w których symbol Ac oznacza acyl dwupeptydu zasadowego kwasu α -aminomonokarboksylowego. Przykładem takich dwupeptydów są: serylo-lizyna lizylo-seryna i lizylo-lizyna. Co najmniej jeden człon dwupeptydu winien mieć charakter zasadowy. Drugi człon może być obojętnym lub również zasadowym kwasem α -aminomonokarboksylowym. Jako obojętne kwasy α -aminomonokarboksylowe wchodzi w rachubę zwłaszcza te, które występują w naturalnych proteinach, a więc na przykład alanina, fenyloalanina, cysteina, cystyna, metionina, glicyna, leucyna, izoleucyna, walina, norwalina, prolina, seryna, treonina i tyrozyna. Podobnie jak składniki zasadowe, mogą także składniki obojętne (przynajmniej te, które mają

centrum asymetrii) występować zarówno w postaci racemicznej jak i optycznie czynnej. W dwupeptydach, zbudowanych z jednego obojętnego i jednego zasadowego kwasu α -aminomonokarboksyłowego można rozróżnić takie dwupeptydy, w których karboksylowa grupa stanowi część obojętnego kwasu — członu dwupeptydu (jak na przykład w lizylo-serynie) — oraz takie dwupeptydy, w których końcowa karboksylowa grupa funkcyjna stanowi część zasadowego kwasu — członu dwupeptydu jak na przykład w serylo-lizynie). W tym ostatnim przypadku rozróżnia się peptydy, w których połączenie amidowe jest typu α lub ω np. N^{α} -serylo-lizyna lub N^{ϵ} -serylo-lizyna. Podobnie rozróżnia się dwupeptydy zbudowane z dwóch zasadowych składników np. N^{α} -lizylo-lizyna lub N^{ϵ} -lizylo-lizyna. Jako przykłady długołańcuchowych estrów dwupeptydów wytworzonych sposobem według wynalazku można wymienić: ester n -decyloowy N^{α} -l-arginylo-l-argininy, ester n -heksadecylowy N^{α} -d-serylo-l-lizyny, ester n -tetradecylowy N^{ϵ} -l-fenylalanilo-l-lizyny, ester n -heksadecylowy l-lizylo-l-fenylalaniny, ester dodecylowy N^{α} -l-lizylo-l-lizyny.

W dalszym ciągu opisu a zwłaszcza w przykładach wiązanie amidowe typu α nie będzie, dla uproszczenia, oznaczane.

Trzecią grupę produktów wytwarzanych sposobem według wynalazku stanowią długołańcuchowe estry zasadowych trójepeptydów, to znaczy takie związki, w których symbol Ac oznacza acyl trójepeptydu zasadowego kwasu α -aminomonokarboksyłowego. Dla tej grupy związków obowiązują te same zasady budowy, które omówione wyżej dla estrów dwupeptydów. Obok jednego składnika — zasadowego kwasu α -aminokarboksyłowego drugi i trzeci składnik mogą stanowić pochodną zasadowych i/lub obojętnych kwasów α -aminomonokarboksyłowych. W estrach trójepeptydów należy także rozróżnić takie związki, w których grupa estrowa znajduje się przy zasadowym kwasie — składniku peptydu, oraz takie, w których grupa estrowa znajduje się przy obojętnym kwasie — składniku peptydu. Różnorodność wynikająca z różnych możliwości łączenia się cegiełek budowy peptydów (połączenie amidowe typu α i/lub typu ω) jest tutaj oczywiście jeszcze większe, niż w estrach dwupeptydów.

Przykładami długołańcuchowych estrów, należących do tej trzeciej grupy produktów wytworzonych według wynalazku są: ester n -heksadecylowy l-lizylo-l-lizylo-l-lizyny, ester n -tetradecylowy N^{α} -l-lizylo-(N^{ϵ} -l-lizylo)-l-lizyny i ester n -dodecylowy glicylo-l-lizylo-l-lizyny.

Według wynalazku związki o wzorze $Ac-OR$ a więc zarówno estry aminokwasów, jak i estry dwu- i trójepeptydów można wytworzyć drogą estryfikacji odpowiednich, nieestryfikowanych związków wyjściowych. Estry dwu- i trójepeptydów można ponadto wytworzyć drogą wydłużenia łańcucha estrów kwasów aminokarboksyłowych i estrów dwupeptydów o jedną lub dwie reszty aminokwasu przez acylowanie przy azocie.

Tak więc związki o wzorze $Ac-OR$ wytwarza się w ten sposób, że związek o wzorze $Ac-OH$, w

którym Ac ma wyżej podane znaczenie lub reaktywną pochodną takiego związku poddaje się estryfikacji alkoholem o wzorze $HO-R$, w którym R ma wyżej podane znaczenie, lub reaktywną pochodną takiego alkoholu, albo też w celu wytworzenia estrów dwu- i trójepeptydów o wzorze $Ac-OR$, ester o wzorze Ac^1-OR , w którym Ac^1 oznacza acyl obojętnego lub zasadowego kwasu α -aminomonokarboksyłowego lub zbudowanego z takich kwasów dwupeptydu, a R ma wyżej podane znaczenie — poddaje się acylowaniu przy azocie związkiem o wzorze Ac^2-OH w którym Ac^2 oznacza acyl kwasu α -aminomonokarboksyłowego lub dwupeptydu, zbudowanego z kwasów α -aminomonokarboksyłowego lub reaktywną pochodną takiego związku, przy czym w skład rodnika Ac^2 winien wchodzić co najmniej jeden zasadowy kwas α -aminomonokarboksyłowy, w przypadku gdy rodnik Ac^1 takiego składnika nie zawiera. Otrzymane estry można przeprowadzić następnie w sole addycyjne z kwasami.

Estryfikację można prowadzić znanymi sposobami. I tak na przykład zasadowy kwas α -aminokarboksyłowy chroniony przy azocie albo dwu- lub trójepeptyd chroniony przy azocie zawierający jako składnik budowy co najmniej jeden zasadowy kwas α -aminokarboksyłowy można poddać reakcji w obecności trzeciorzędowej zasady (jak trójkiloaminy na przykład trójetiloaminy) — z reaktywnym estrem alkoholu o wzorze $HO-R$. Jako reaktywne estry nadają się zwłaszcza halogenki na przykład chlorki, bromki lub jodki.

Wolne grupy aminowe związków wyjściowych można blokować za pomocą zwykle stosowanych grup ochronnych. Takimi grupami ochronnymi dla azotu są na przykład grupa karbo-benzo-iloksylowa, tozylowa, ftaloilowa, trójfenylo-metylowa, formylowa, trójfluoroacetylowa i III rząd. butyloksykarbonylowa. Jako grupa ochronna dla grupy guanidynowej w argininie wchodzi — jak wiadomo — w rachubę także grupa nitrowa. Jako rozpuszczalniki lub środki rozcieńczające można stosować na przykład dioksan, dwumetyloformamid i inne. Reakcja ta przebiega korzystnie w podwyższonych temperaturach, na przykład w temperaturze wrzenia roztworu. Według tego wariantu ekstryfikacji można na przykład wytworzyć ester n -heksadecylowy l-lizyny w ten sposób, że roztwór N^{α} , N^{ϵ} -dwukarbobenzoiloksy l-lizyny w dioksanie ogrzewa się do wrzenia pod chłodnicą zwrotną w obecności trójetiloaminy mniej więcej z 1 równoważnikiem molowym 1-bromo-heksadekanu, po czym odszczepia się obie grupy ochronne karbo-benzoiloksyłowe za pomocą wodoru. W sposób odpowiedni do powyższego można zestryfikować na przykład l-lizylo-l-lizynę lub l-lizylo-l-lizylo-l-lizynę poddając wymienione peptydy (przy zablokowanych grupach aminowych) reakcji za halogenkiem alkilu lub alkenyłu i następnie odszczepiając grupy ochronne. Do procesu ekstryfikacji można użyć z jednej strony jako materiałów wyjściowych także reaktywnych pochodnych kwasów o wzorze $Ac-OH$, a z drugiej strony długołańcuchowych alkoholi o wzorze $HO-R$. I tak na przykład bezwodnik lub mieszany bezwodnik kwasu

o wzorze $\text{Ac}-\text{OH}$, najlepiej przy zablokowanych grupach aminowych, można poddać reakcji z długołańcuchowym alkoholem na przykład cetylowym. Można też dokonać estryfikacji przez katalizowaną kwasami reakcję kwasu o wzorze $\text{Ac}-\text{OH}$ z alkoholem o wzorze $\text{HO}-\text{R}$. Jako kwaśny katalizator wchodzi w rachubę na przykład kwas p-toluenosulfonowy. Przy tym rodzaju estryfikacji nie potrzeba ochraniać grup aminowych. Długołańcuchowe estry dwupeptydów można wytworzyć według wynalazku także z długołańcuchowych estrów zasadowych lub obojętnych kwasów α -aminomonokarboksylowych przez α - lub ewentualnie ω -amidowe połączenie z dalszym kwasem α -aminomonokarboksylowym. Jeżeli się wychodzi z długołańcuchowego estru zasadowego kwasu α -aminomonokarboksylowego, na przykład z estru n-dodecylowego ornityny, to aminokwas przewidziany do budowy peptydu jako drugi składnik może mieć charakter zasadowy, jak na przykład ornityna lub obojętny jak treonina.

Jeżeli się natomiast użyje jako materiału wyjściowego estru obojętnego kwasu α -aminomonokarboksylowego, jak na przykład estru leucyny, to wtedy jako drugi składnik budowy peptydu wchodzi w rachubę tylko zasadowy kwas α -aminomonokarboksylowy, ponieważ w cząsteczkę produktu końcowego winien wchodzić jako składnik budowy co najmniej jeden aminokwas o charakterze zasadowym. Syntezę estrów dwupeptydów z odpowiednich estrów kwasów α -aminomonokarboksylowych można prowadzić znanymi sposobami stosowanymi w chemii peptydów, a mianowicie przez N-acylowanie estrów aminokwasów za pomocą związku, który wprowadzi żądany acyl. I tak na przykład można poddać reakcji kwas α -aminomonokarboksylowy z długołańcuchowym estrem kwasu α -aminomonokarboksylowego w obecności środka kondensującego (takiego jak karbodiimidu, na przykład dwucykloheksylokarbodiimidu lub karbonylodwuimidazolu lub 2-etylo-5-metasulfonianofenylizoksazolu). Reakcja zachodzi korzystnie w niższej temperaturze (na przykład w temperaturze $0-20^\circ\text{C}$) w obecności rozpuszczalnika, takiego jak dwumetyloformamid, chloroform, chlorek metylenu, octan etylu, czterohydrofuran i inne. Można dalej do acylowania estru użyć jako środka acylującego pochodnej kwasu α -aminomonokarboksylowego na przykład azydku, halogenku (na przykład chlorku), albo bogatszego energetycznie estru (na przykład estru p-nitrofenylowego, estru tiofenylowego lub estru cyjanometylowego) lub bezwodnika mieszanego z nieorganicznym kwasem (takim jak kwas węglowy, siarkowy, fosforowy). Reakcję można przeprowadzić w temperaturze pokojowej lub niższej. Grupę karboksylową związku acylującego, jak i grupę aminową składnika estrowego można aktywować metodą Andersona, według której za pomocą czteroetylofosforynu $(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2 = \text{POP} = (\text{OC}_2\text{H}_5)_2$, grupę karboksylową przeprowadza się w grupę $-\text{COOP}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2$, a grupę aminową w grupę $-\text{NHP}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2$.

W estrach zasadowych kwasów α -aminokarboksylowych, a więc takich jak α,ω -dwuaminomono-

karboksylowych można acylować grupę α -aminową i/lub ω -aminową. Acylowania N^α (lub N^ω) można dokonać drogą blokowania grupy ω - (lub α -aminowej). Do blokowania grupy aminowej nadają się 5 wyżej wspomniane grupy ochronne, jak grupa karbobenzoiloksylowa lub grupa formylowa. Jeżeli żadna z obu grup aminowych zasadowego składnika estrowego nie jest zablokowana, to wtedy można uzyskać N^α , N^ω -dwuacylowe pochodne (estry 10 trójppeptydów).

Oprócz wymienionego wyżej sposobu długołańcuchowe estry trójppeptydów można wytworzyć także drogą kondensacji estru kwasu α -aminomonokarboksylowego z dwupeptydem lub kondensacji estru dwupeptydu z kwasem α -aminomonokarboksylowym. I tak na przykład można wytworzyć 15 ester n-decylowy lizylo-lizyny w ten sposób, że ester n-decylowy lizyny z zablokowanym N^ϵ poddaje się acylowaniu azydkiem lizylo-lizyny, mającym wszystkie grupy aminowe zablokowane, a następnie odszczepia się grupy ochronne. Do tegoż estru trójppeptydu dochodzi się jednak także 20 przez N^α -acylowanie estru n-decylowego lizylo-lizyny w zablokowanych grupami ϵ -aminowymi za pomocą lizyny ewentualnie chronionej przy azocie i następnie przez odszczepienie grup ochronnych. Odszczepienie grup ochronnych po dokonanej estryfikacji lub po N-acylowaniu może się odbywać znanym sposobem, na przykład za pomocą 25 hydrogenolizy lub hydrolizy. Ochronną grupę karbobenzoiloksylową można odszczepić na przykład za pomocą katalitycznie aktywowanego wodoru (przy użyciu jako katalizatora na przykład palladu) lub za pomocą mieszaniny kwasu bromowodorowego i kwasu octowego lodowatego. Formylową grupę ochronną można odszczepić na zimno 30 za pomocą kwasów mineralnych.

Wytworzone według wynalazku produkty w postaci zasad można przeprowadzić znanymi sposobami 35 w sole addycyjne z kwasami, z których to soli można również w znany sposób uwolnić zasady. Do wytwarzania soli można użyć stosowane zwykle do tego celu kwasy nieorganiczne i organiczne, na przykład kwas siarkowy, fosforowy, 40 chlorowcowodorowy (jak kwas solny i bromowodorowy), kwas szczawiowy, octowy, cytrynowy, winowy, sorbowy, p-toluenosulfonowy i inne.

Wytworzone sposobem według wynalazku produkty odznaczają się przy małej toksyczności 45 wysoką aktywnością przeciw bakteriom gramododatnim (takim jak pneumokoki, streptokoki, laseczniki węglika, stafylokoki, enterokoki) i bakteriom gramujemnym (takim jak Escherichia coli, Salmonella typhi murium, Shigella, Klebsiella pneumoniae, zwłaszcza zaś Pseudomonas aeruginosa). Produkty wytworzone według wynalazku można 50 więc stosować jako środki dezynfekujące do celów medycznych i niemiedycznych, na przykład do dezynfekcji pomieszczeń, aparatury i sprzętu w mleczarstwie. Mogą one dalej znaleźć zastosowanie jako środki antyseptyczne dla ludzi i zwierząt (na przykład profilaktycznie i do zwalczania mastitis 55 u ssaków, a zwłaszcza u bydła rogatego). Szczególnie silne działanie bakteriobójcze wykazują między innymi następujące związki: ester n-decylowy

l-lizyny, ester n-dodecylowy l-lizyny, ester n-tetradecylowy l-lizyny i ich sole addycyjne z kwasami.

Produkty wytworzone sposobem według wynalazku można stosować jako leki na przykład w postaci preparatów farmaceutycznych w połączeniu z organicznym lub nieorganicznym obojętnym nośnikiem, przystosowanym do stosowania jelitowego lub pozajelitowego, takim jak na przykład woda, żelatyna, cukier mlekowy, skrobia, stearynian magnezu, talk, oleje roślinne, guma, glikole polialkilenowe, wazelina itd. Preparaty farmaceutyczne mogą być w postaci stałej na przykład jak tabletki, drażetki, czopki, kapsułki lub w postaci płynnej jako roztwory, zawiesiny lub emulsje. Są one ewentualnie sterylizowane i/albo zawierają substancje pomocnicze takie jak środki konserwujące, stabilizujące, zwilżające lub emulgujące, sole dla odmiany ciśnienia osmotycznego, lub bufony. Mogą one zawierać także jeszcze i inne terapeutycznie czynne substancje.

W poniższych przykładach temperatury podano w stopniach Celsjusza. Symbol Z oznacza grupę karbобензоилоксыловą.

Przykład I. 41,4 g N^{α} -Z(N^{ϵ} -Z)-l-lizyny, 200 ml dioksanu, 14,7 ml trójetyleaminy i 30,5 g 1-bromo-heksadekanu ogrzewa się w ciągu 20 godzin pod chłodnicą zwrotną w temperaturze 95—100°. Wytrącony bromowodorek trójetyleaminy odsąca się na pompie, przesącz odparowuje w próżni, pozostałość ekstrahuje octanem etylu, a powstały wyciąg wymywa do odczynu obojętnego kolejno 1 n kwasem solnym, 5% roztworem NaCl, 1 n amoniakiem i 5% roztworem NaCl. Po osuszeniu nad Na_2SO_4 roztwór odparowuje się w próżni i otrzymany tym sposobem ester n-heksadecylowy N^{α} -Z(N^{ϵ} -Z)-l-lizyny wykryształizowuje się z eteru naftowego. Temperatura topnienia 70—72°C. $[\alpha]_D^{20} = -9,0^{\circ}$ ($c = 2$ w metanolu).

Z otrzymanego estru aminokwasu chronionego przy azocie odszczepia się za pomocą 5% palladu osadzonego na węglu i wodoru grupę karbобензоилоксыловą, następnie odsąca się katalizator, przesącz odparowuje w próżni, a do pozostałości dodaje 4 n kwasu solnego w metanolu i powtórnie odparowuje, a następnie miesza z acetonem. Otrzymany w ten sposób dwuchlorowodorek estru n-heksadecylowego-l-lizyny odsąca się na pompie, wymywa acetonem i przekryształizowuje z etanolu. Temperatura topnienia 108—110°C. rozkład $[\alpha]_D^{20} = +6,9^{\circ}$ ($c = 2$ w metanolu).

Przykład II. 18,2 g alkoholu cetylowego, 14,25 g monohydratu kwasu p-toluenosulfonowego, 9,1, n monochlorowodorku l-lizyny i 200 ml benzenu ogrzewa się w ciągu 20 godzin do wrzenia pod chłodnicą zwrotną. Tworzącą się wodę usuwa się na bieżąco z pomocą oddzielacza wody. Mieszaninę reakcyjną odparowuje się w próżni. Pozostałość ekstrahuje się w celu usunięcia nadmiaru alkoholu cetylowego, mieszaniną wody i octanu etylu, pH fazy wodnej doprowadza się za pomocą stężonego amoniaku do wartości 9—10, ekstrahuje octanem etylu, roztwór octanu etylu suszy nad Na_2SO_4 i odparowuje. Pozostały olej zobojętnia

się 1 n HCl w metanolu. Powstały roztwór odparowuje się, pozostałość miesza z acetonem i powstałą breję krystaliczną odsąca się na pompie. W końcu otrzymany w ten sposób dwuchlorowodorek estru n-heksadecylowego-l-lizyny przekryształizowuje się z etanolu. Temperatura topnienia 108—110°C rozkład $[\alpha]_D^{20} = +6,9^{\circ}$ ($c = 2$ w metanolu).

Przykład III. 29,8 g n-eikozanolu, 200 ml absolutnego czterohydrofuranu i 115 mg sproszkowanego sodu ogrzewa się do wrzenia 3 godziny pod chłodnicą zwrotną zaopatrzoną w rurkę z $CaCl_2$. Mieszaninę n-eikozanolu i n-eikozylanu sodowego zlewa się znad nieznacznej ilości sodu metalicznego. W tym samym czasie rozpuszcza się 41,4 g N^{α} -Z(N^{ϵ} -Z)-l-lizyny w 200 ml czterohydrofuranu, oziębia się do temperatury -10° , dodaje 16,7 g karbonylodwuimidazolu i miesza 1 godzinę w temperaturze -10° . Następnie dodaje się w temperaturze 0° , kroplami, stale mieszając, wyżej opisaną mieszaninę n-eikozanolu i n-eikozylanu sodowego. Całość miesza się w ciągu 30 minut w temperaturze 0° i dalej w ciągu 24 godzin w temperaturze 20° . Roztwór odparowuje się w próżni, pozostałość rozpuszczoną w octanie etylu prze-mywa się do odczynu obojętnego kolejno 1 n kwasem solnym, 5% roztworem NaCl, 1 n amoniakiem i 5% roztworem NaCl, osusza nad Na_2SO_4 , odparowuje rozpuszczalnik, a pozostałość wykryształizowuje z mieszaniny eteru i eteru naftowego. Tak otrzymany woskowaty o zablokowanych grupach aminowych ester aminokwasu (ester n-eikozylowy N^{α} -Z(N^{ϵ} -Z)-l-lizyny) poddaje się w roztworze lodowatego kwasu octowego hydrogenolizie za pomocą 5% palladu osadzonego na węglu i wodorem gazowym. Następnie odsąca się katalizator, przesącz odparowuje się w próżni, do pozostałości dodaje się 4 n roztwór HCl w metanolu i ponownie odparowuje, a następnie miesza z acetonem. Otrzymany w ten sposób dwuchlorowodorek estru n-eikozylu-l-lizyny odsąca się na pompie i wielokrotnie wytrąca z metanolu wkraplając go do octanu etylu. Temperatura topnienia 107—109°C $[\alpha]_D^{20} = +7,0^{\circ}$ ($c = 2$ w metanolu).

Przykład IV. Sposobami opisanymi w poprzednich przykładach można wytworzyć następujące związki:

Produkt	Temperatura topnienia (rozkład) °C	$[\alpha]_D^{20}$
Winian estru n-decylowego l-lizyny	130	+23°
dwuchlorowodorek estru n-dedecylowego l-lizyny	101—103	+ 8,3°
dwuchlorowodorek estru n-tetradecylowego l-lizyny	91—93	+ 9,2°
dwuchlorowodorek estru n-oktadecylowego l-lizyny	105—107	+ 6,8°
dwuchlorowodorek estru n-heksadecylowego d,l-lizyny	100—102	—

Przykład V. 23 g N^{α} -Z(N^{ϵ} -Z)-l-lizylo-(N^{ϵ} -Z)-l-lizyny poddaje się według przykładu I w obecności 100 ml dioksanu i 5,2 ml trójetyloaminy reakcji z 11,4 g 1-bromo-heksadekanu. Ester dwupeptydu z zablokowanymi grupami N (ester n-heksadecylowy N^{α} -Z(N^{ϵ} -Z)-l-lizylo-(N^{ϵ} -Z)-l-lizyny (przekrystalizowuje się kilkakrotnie z mieszaniny octanu etylu i eteru naftowego (temperatura topnienia 100–102°) a następnie odszczepia się grupę karbobenzoiloksyloową w lodowatym kwasie octowym za pomocą wodoru i przy użyciu 5% palladu osadzonego na węglu. Po odsączeniu katalizatora oddestylowuje się lodowaty kwas octowy, do pozostałości dodaje 4 n HCl w metanolu i kilkakrotnie wytrąca z etanolu acetonem. Otrzymany w ten sposób trójchlorowodorek estru n-heksadecylowego l-lizylo-l-lizyny topnieje w temperaturze 234° (rozkład) $[\alpha]_D^{20} = +3,0^{\circ}$ ($c = 2$ w metanolu).

Przykład VI. 19 g estru n-heksadecylowego (N^{ϵ} -Z)-l-lizyny i 11,3 g Z-1-fenylalaniny rozpuszcza się w 50 ml dwumetyloformamidu, chłodzi do temperatury -10° , dodaje 7,7 g dwucykloheksylokarboduimidu i pozostawia w ciągu 20 godzin w temperaturze 0° . Całkowicie zestaloną mieszaninę reakcyjną przeprowadza się przez krótkie ogrzanie w ciecz, szybko się ochładza i powstały dwucykloheksylomocznik odsącza się za pomocą pompy. Z przesączu wytrąca się osad działaniem 1 n kwasu solnego, a po rozpuszczeniu osadu w dwumetyloformamidzie ponownie wytrąca 1 n amoniakiem, odsącza na pompie i suszy. Otrzymany tym sposobem surowy ester dwupeptydu z zablokowanymi grupami aminowymi (ester n-heksadecylowy Z-1-fenylalanilo-(N^{ϵ} -Z)-l-lizyny) przekrystalizowuje się z etanolu, po czym odszczepia się grupę karbobenzoiloksyloową działaniem 33% roztworu HBr w kwasie octowym lodowatym w ciągu 3 godzin w aparaturze zamkniętej za pomocą rurki z $CaCl_2$. Otrzymany w wyniku tego bromowodorek estru n-heksadecylowego l-fenylalanilo-l-lizyny wytrąca się absolutnym eterem, odsącza na pompie, wymywa eterem, suszy i przekrystalizowuje z etanolu. Temperatura topnienia 145–147°. $[\alpha]_D^{20} = -3^{\circ}$ ($c = 2$ w metanolu).

Użyty jako materiał wyjściowy ester heksadecylowy (N^{ϵ} -Z)-l-lizyny można sporządzić jak następuje:

61,6 g N^{α} -formylo-(N^{ϵ} -Z)-l-lizyny, 200 ml dioksanu, 29 ml trójetyloaminy i 61 g 1-bromo-heksadekanu ogrzewa się w ciągu 20 godzin pod chłodnicą zwrotną w temperaturze 95–100°. Bromowodorek trójetyloaminy odsącza się na pompie, przesącz odparowuje w próżni a pozostałość wymywa do odczynu obojętnego po rozpuszczeniu w octanie etylu kolejno 10% kwasem octowym, 5% NaCl, 1 n amoniakiem i 5% roztworu NaCl, suszy nad Na_2SO_4 , odparowuje i wykryszalizowuje z etanolu. Otrzymany w ten sposób ester n-heksadecylowy N^{α} -formylo-(N^{ϵ} -Z)-l-lizyny topnieje w temperaturze 86–88°. Z tego estru aminokwasu z zablokowanymi grupami aminowymi, odszczepia się grupę formyloową w 2 n roztworze HCl w metanolu w ciągu 16 godzin. Roztwór odparowuje i krystalizuje

z mieszaniny metanolu i eteru. Otrzymany w ten sposób chlorowodorek estru n-heksadecylowego (N^{ϵ} -Z)-l-lizyny topnieje w temperaturze 88–90°. $[\alpha]_D^{20} = +6,5^{\circ}$ ($c = 2$ w metanolu). Wolną zasadę sporządza się w ten sposób, że chlorowodorek wytrząsa się z chloroformem i amoniakiem, fazę chloroformową wymywa się wodą, suszy nad Na_2SO_4 i odparowuje w próżni. Wolny ester n-heksadecylowy (N^{ϵ} -Z)-l-lizyny ma postać oleju, który zestala się przy oziębieniu.

Przykład VII. 6,8 g estru n-heksadecylowego l-fenylalaniny i 7,2 g N^{α} -Z(N^{ϵ} -Z)-l-lizyny rozpuszcza się w 40 ml dwumetyloformamidu, dodaje w temperaturze 0° 3,55 g dwucykloheksylokarboduimidu i pozostawia w temperaturze 0° w ciągu 20 godzin. Zestaloną masę przeprowadza się przez krótkie ogrzanie w ciecz, szybko ochładza i odsącza wytrącony dwucykloheksylomocznik. Przesącz rozcieńcza się octanem etylu, a następnie wymywa do odczynu obojętnego kolejno 1 n kwasem solnym, 5% roztworem NaCl, 1 n amoniakiem i 5% NaCl, suszy nad Na_2SO_4 , odparowuje i pozostałość wykryszalizowuje z mieszaniny octan etylu-eter naftowy. Otrzymany ester dwupeptydu z zablokowanymi grupami aminowymi poddaje się reakcji odszczepiania grupy karbobenzoiloksyloowej w lodowatym kwasie octowym za pomocą wodoru w obecności 5% palladu osadzonego na węglu, katalizator oddziela się, przesącz odparowuje, pozostałość rozpuszcza w 4 n roztworze HCl w metanolu, po czym ponownie odparowuje i miesza z acetonem. Otrzymany w ten sposób dwuchlorowodorek estru n-heksadecylowego l-lizylo-l-fenylalaniny odsącza się na pompie i przekrystalizowuje z etanolu. Temperatura topnienia 160–162°C; $[\alpha]_D^{20} = +20,4^{\circ}$ ($c = 2$ w metanolu).

Przykład VIII. 23 g estru n-heksadecylowego kwasu N^{α} -formylo-(N^{γ} -Z)-l- α,γ -dwuaminomasłowego (temperatura topnienia 89–91°) $[\alpha]_D^{20} = -12,1^{\circ}$; ($c = 2$ w metanolu) poddaje się reakcji odszczepiania grupy karbobenzoiloksyloowej w lodowatym kwasie octowym za pomocą palladu osadzonego na węglu i wodoru. Następnie katalizator odsącza się na pompie, przesącz odparowuje w próżni, a pozostałość wytrząsa z wodą, octanem etylu i nadmiarem amoniaku, fazę octanu etylu wymywa się wodą, suszy nad Na_2SO_4 i odparowuje w próżni. Otrzymuje się w ten sposób ester n-heksadecylowy kwasu N^{α} -formylo-l- α,γ -dwuaminomasłowego jako gęsty olej, który po oziębieniu krystalizuje. Do roztworu sporządzonego z 15 g otrzymanego estru i 15,7 g kwasu N^{α} -Z(N^{γ} -Z)-d- α,γ -dwuaminomasłowego w 70 ml dwumetyloformamidu dodaje się w temperaturze 0° roztwór 8,4 dwucykloheksylokarboduimidu i pozostawia w temperaturze 0° w ciągu 20 godzin. Następnie wydzielony dwucykloheksylomocznik odsącza się na pompie, przesącz rozcieńcza się 500 ml octanu etylu, wymywa do odczynu obojętnego kolejno 1 n kwasem octowym, wodą i 1 n amoniakiem, roztwór octanu etylu suszy się nad Na_2SO_4 , po czym odparowuje w próżni. Otrzymany w ten sposób ester n-heksadecylowy kwasu N^{α} -formylo- N^{γ} -(N^{α} -Z(N^{γ} -Z)-d- α,γ -dwuaminobutyrylo)-l- α,γ -dwuaminoma

słowego wykryształizowuje z mieszaniny octan etylu — eter naftowy. Temperatura topnienia 114—116°C; $[\alpha]_D^{20} = -6,9^\circ$ ($c = 2$ w dwumetyloformamidzie).

Z 5 g otrzymanego w ten sposób estru dwupeptydu z zablokowanymi grupami aminowymi, odszczepia się grupę karbobenzoiloksyloową w lodowatym kwasie octowym za pomocą wodoru w obecności 5% palladu osadzonego na węglu. Następnie odsącza się katalizator na pompie, przesącz odparowuje w próżni, a z pozostałości rozpuszczonej w 30 ml 4 n roztworu HCl w metanolu odszczepia grupę formylową w temperaturze 20° w ciągu 5 godzin. Następnie odparowuje się roztwór w próżni, pozostałość miesza z acetonem, odsącza się na pompie, wytrąca po rozpuszczeniu w metanolu acetonem i po ponownym rozpuszczeniu w metanolu octanem etylu, po czym suszy w próżni w temperaturze 60°. Otrzymany w ten sposób trójchlorowodorek estru n-heksadecylowego kwasu N γ -(d- α,γ -dwuaminobutyrylo)-l- α,γ -dwuaminomono-słowego topnieje w temperaturze 190—193° (rozkład) $[\alpha]_D^{20} = +15,7^\circ$; ($c = 3$ w metanolu).

Przykład IX. Z 32 g estru n-heksadecylowego N α -formylo-(N ϵ -Z)-l-lizyny odszczepia się grupę karbobenzoiloksyloową w lodowatym kwasie octowym za pomocą palladu osadzonego na węglu i wodoru. Katalizator odsącza się na pompie, przesącz odparowuje w próżni, pozostałość rozpuszcza w mieszaninie wody i octanu etylu, pH roztworu doprowadza się za pomocą stężonego amoniaku do wartości 9—10, po czym ekstrahuje się octanem etylu, fazę octanu etylu suszy się nad Na $_2$ SO $_4$ i odparowuje w próżni. Otrzymany jako pozostałość ester n-heksadecylowy N α -formylo-l-lizyny krzepnie przy oziębieniu. 22 g otrzymanego w ten sposób estru aminokwasu i 22,9 g N α -Z(N ϵ -Z)-l-lizyny rozpuszcza się w 50 ml dwumetyloformamidu, do tego roztworu dodaje się w temperaturze 0° roztwór 11,3 g dwucykloheksylokarbodwuimidu i pozostawia w temperaturze 0° w ciągu 24 godzin. Otrzymany gęsty żel przeprowadza się w ciecz przez ogrzanie, następnie odsącza się na pompie dwucykloheksylokarbodwuimid i z przesączu wytrąca się osad za pomocą 1 n kwasu octowego. Osad odsącza się na pompie i po rozpuszczeniu w dwumetyloformamidzie wytrąca 1 n amoniakiem. Otrzymany w ten sposób ester n-heksadecylowy N α -formylo-N ϵ -(N α -Z)N ϵ -Z-l-lizyny odsącza się na pompie, wymywa wodą w próżni i przekryształizowuje z mieszaniny octan-etylu i eteru naftowego. Temperatura topnienia 102—104°; $[\alpha]_D^{23} = -10,2^\circ$ ($c = 2$ w metanolu). Z 15 g otrzymanego w ten sposób estru dwupeptydu odszczepia się grupę karbobenzoiloksyloową w lodowatym kwasie octowym za pomocą palladu osadzonego na węglu i wodoru. Katalizator odsącza się na pompie, przesącz odparowuje w próżni, a z pozostałości rozpuszczonej w 100 ml 2 n roztworze HCl w metanolu odszczepia się grupę formylową w temperaturze 20° w ciągu 5 godzin. Przy odparowaniu powstaje pozostałość o charakterze kryształicznym, którą przekryształizowuje się z etanolu. Otrzymany tym sposobem trójchlorowodorek estru n-heksadecylowego

N ϵ -l-lizylo-l-lizyny topnieje w temperaturze 220—222° (rozkład); $[\alpha]_D^{23} = +18,9^\circ$ ($c = 2$ w metanolu).

Przykład X. 9 g seryny Z-d-seryny i 19 g estru n-heksadecylowego (N ϵ -Z)-l-lizyny rozpuszcza się w 70 ml dwumetyloformamidu i ochładza do temperatury -10°, po czym dodaje do tego 7,7 g dwucykloheksylokarbodwuimidu i pozostawia w temperaturze 0° w ciągu 20 godzin. Zestaloną masę przeprowadza się w ciecz przez krótkie ogrzanie, szybko ochładza i oddziela od dwucykloheksylokarbodwuimidu przez odsączenie na pompie. Z przesączu wytrąca się osad 1 n kwasem solnym, a następnie po rozpuszczeniu w dwumetyloformamidzie ponownie wytrąca 1 n amoniakiem. Po wysuszeniu wykryształizowuje otrzymany ester n-heksadecylowy Z-d-serylo-(N ϵ -Z)-l-lizyny z etanolu. Z otrzymanego estru dwupeptydu z zablokowanymi grupami aminowymi odszczepia się grupy karbobenzoiloksyloowe w lodowatym kwasie octowym za pomocą 5% palladu osadzonego na węglu i wodoru. Katalizator odsącza się, a przesącz odparowuje, rozpuszcza w 4 n roztworze HCl w etanolu i ponownie odparowuje. Otrzymany w ten sposób chlorowodorek estru n-heksadecylowego d-serylo-l-lizyny miesza się z acetonem, pozostawia w temperaturze 0° w ciągu 3 godzin odsącza na pompie i wykryształizowuje z etanolu. Temperatura topnienia 120°; $[\alpha]_D^{20} = -15^\circ$ ($c = 2$ w metanolu).

Przykład XI. 17 g estru n-heksadecylowego l-lizyny i 34,6 g N α -Z(N ϵ -Z)-l-lizyny rozpuszcza się w 150 ml dwumetyloformamidu, do tego dodaje się w temperaturze -10° 17 g dwucykloheksylokarbodwuimidu i pozostawia w temperaturze 0° w ciągu 24 godzin. Gęsty żel przeprowadza się w ciecz przez ogrzanie, następnie ziębi się szybko i uwalnia od dwucykloheksylokarbodwuimidu przez przesączenie na pompie. Przesącz rozcieńcza się 800 ml octanu etylu, po czym wymywa do odczynu obojętnego kolejno 1 n kwasem solnym, wodą, 1 n amoniakiem i wodą. Po wysuszeniu nad Na $_2$ SO $_4$ octan etylu oddestylowuje się w próżni, a pozostałość przekryształizowuje się najpierw z etanolu, a później z metanolu. Otrzymany w ten sposób ester n-heksadecylowy N α ,N ϵ -dwo-l-lizylo-l-lizyny z zablokowanymi grupami aminowymi topnieje w temperaturze 131—132°. Z tego estru trójpeptydu z zablokowanymi grupami aminowymi odszczepia się grupy karbobenzoiloksyloowe w lodowatym kwasie octowym za pomocą 5% palladu osadzonego na węglu i wodoru, odsącza się katalizator, a lodowaty kwas octowy oddestylowuje się w próżni. Pozostałość rozpuszczoną w 4 n roztworze HCl w metanolu odparowuje się w próżni, miesza z acetonem, odsącza na pompie, suszy i wielokrotnie wytrąca z etanolu acetonem. Otrzymany w ten sposób czterochlorowodorek estru n-heksadecylowego N α -l-lizylo-(N ϵ -l-lizylo)-l-lizyny topnieje w temperaturze 240° (rozkład). $[\alpha]_D^{20} = +12,9^\circ$ ($c = 2$ w metanolu).

Przykład XII. 20,9 g hydrazidu $\text{N}^{\alpha}\text{-Z}(\text{N}^{\epsilon}\text{-Z})\text{-l-lizylo-(N}^{\epsilon}\text{-Z)-l-lizyny}$ rozpuszcza się w 120 ml 80% kwasu octowego i 13 ml stężonego kwasu solnego, do tego dodaje się 150 ml octanu etylu i schładza do temperatury -10° . W tej temperaturze wkrapla się przy stałym mieszaniu roztwór 2,2 g azotynu sodu w 10 ml wody, po 20 minutach ekstrahuje się w temperaturze 0° azydek za pomocą 150 ml octanu etylu, wymywa się wyciąg octanu etylu wodą, 1 n kwaśnym węglanem sodu i suszy w temperaturze 0° nad siarczanem sodu. Do roztworu azydku, jeszcze w postaci soli kwasu octowego, dodaje się w temperaturze 0° przy stałym mieszaniu porcjami roztwór 15,6 g estru heksadecylowego $(\text{N}^{\epsilon}\text{-Z})\text{-l-lizyny}$ w 50 ml octanu etylu i pozostawia w temperaturze 0° na przeciąg 48 godzin. Otrzymany tym sposobem ester trójpeptydu z zablokowanymi grupami aminowymi [ester n-heksadecylowy $\text{N}^{\alpha}\text{-Z}(\text{N}^{\epsilon}\text{-Z})\text{-l-lizylo-(N}^{\epsilon}\text{-Z)-l-lizylo-(N}^{\epsilon}\text{-Z)-l-lizyny}$] odsąca się na pompie, wymywa eterem, rozpuszcza w dwumetyloformamidzie i wytrąca 1 n kwasem solnym, po czym wytrąca powtórnie 1 n amoniakiem z dwumetyloformamidu, odsąca na pompie, suszy i przekrystalizowuje z mieszaniny dwumetyloformamid/alkohol. Temperaturą topnienia $151\text{--}153^{\circ}$; $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -8,3^{\circ}$ ($c = 2$ w dwumetyloformamidzie). Z 15 g otrzymanego estru trójpeptydu z zablokowanymi grupami aminowymi odszczepia się grupę karbobenzoiloksylową w lodowatym kwasie octowym za pomocą paladatu osadzonego na węglu i wodoru. Katalizator odsąca się, a przesącz odparowuje się w próżni. Pozostałość rozpuszcza się w 60 ml 4 n roztworze HCl w metanolu po czym natychmiast odparowuje się w próżni, następnie miesza z acetonem, odsąca na pompie i wielokrotnie wytrąca z metanolu octanem etylu. W ten sposób otrzymuje się czterochloroderek estru n-heksadecylowego l-lizylo-l-lizylo-l-lizyny o temperaturze topnienia 275° (rozkład).

Przykład XIII. Produkty wytworzone według wynalazku (na przykład w postaci rozpuszczalnych w wodzie soli addycyjnych z kwasami, takich jak chlorowodorki) można przeprowadzić w różne formy gotowego leku, na przykład.

- a) Roztwór wodny (0,05; 0,1; 1%)
- | | |
|-------------------|----------------------|
| Substancja czynna | 0,05 lub 0,1 lub 1 g |
| woda destylowana | ad 100 ml |
- b) Nalewka (0,05 lub 1%)
- | | |
|-------------------|--------------|
| Substancja czynna | 0,05 lub 1 g |
| woda destylowana | 2 ml |
| etanol 94% | ad 100 ml |

- c) Maść
- | | |
|-------------------|----------|
| Substancja czynna | 0,1 g |
| metyceluloza | 1,2 g |
| woda destylowana | ad 100 g |

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania estrów aminokwasów lub peptydów o właściwościach bakteriobójczych, o ogólnym wzorze Ac-OR w którym R oznacza długołańcuchowy, co najmniej 8 atomów węgla liczący rodnik węglowodorowy, a Ac oznacza acyl zasadowego kwasu α -aminomonokarboksylowego, lub dwu- albo trójpeptydu, stanowiącego pochodną takiego kwasu, **znamienny tym**, że związek o wzorze Ac-OH , w którym Ac ma wyżej podane znaczenie, lub reaktywną pochodną takiego związku estryfikuje się alkoholem o wzorze HOR , w którym R ma wyżej podane znaczenie, lub reaktywną pochodną takiego alkoholu, albo też w celu uzyskania estrów dwu- i trójpeptydów o wzorze Ac-OR , ester o wzorze $\text{Ac}^1\text{-OR}$, w którym Ac^1 oznacza acyl obojętnego lub zasadowego kwasu α -aminomonokarboksylowego lub dwupeptydu zbudowanego z takich kwasów, a R ma wyżej podane znaczenie, poddaje się N-acylowaniu związkiem o wzorze $\text{Ac}^2\text{-OH}$, w którym Ac^2 oznacza acyl kwasu α -aminomonokarboksylowego lub dwupeptydu, zbudowanego z kwasów α -aminomonokarboksylowych lub reaktywną pochodną takiego związku, przy czym w skład reszty Ac^2 winien wchodzić co najmniej jeden zasadowy kwas α -aminomonokarboksylowy w przypadku, gdy rodnik Ac^1 takiego składnika nie zawiera, a otrzymane związki ewentualnie przeprowadza się w sole addycyjne z kwasami.
2. Sposób według zastrz. 1, **znamienny tym**, że jako związek Ac-OH stosuje się lizynę albo argininę, lub dwu- albo trójpeptyd zawierający w swej cząsteczce co najmniej jeden z tych aminokwasów.
3. Sposób według zastrz. 1—2, **znamienny tym**, że jako środek estryfikujący stosuje się alkohol o 8—20 atomach węgla, zwłaszcza alkohol n-oktylowy, n-decylowy, n-dodecylowy, n-tetradecylowy, n-heksadecylowy, n-oktadecylowy lub n-eikozylowy, albo też reaktywne pochodne tych alkoholi.