



Patent tymczasowy dodatkowy
do patentu nr ———

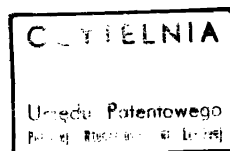
Int. Cl.² C07C 103/52
//A01N 57/18

Zgłoszono: 83 11 18 (P. 244672)

Pierwszeństwo ———

Zgłoszenie ogłoszono: 84 09 24

Opis patentowy opublikowano: 1986 11 29



Twórcy wynalazku: Roman Gancarz, Paweł Kafarski, Barbara Lejczak,
Przemysław Mastalerz, Jan Sylwester Wieczorek, Marta Zbyryt-Król

Uprawniony z patentu tymczasowego: Politechnika Wrocławska,
Wrocław (Polska)

Sposób wytwarzania nowych pochodnych peptydów

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowych pochodnych peptydów o wzorze ogólnym 1, w którym R^1 oznacza atom wodoru, alkil, aryl, aralkil, hydroksyalkil, karboksyalkil, aminoalkil, tioalkil, alkilotioalkil, R^2 oznacza wodór lub R^1 , R^2 stanowią mostek polimetylenowy, zaś X oznacza atom wodoru bądź następną resztę aminokwasu białkowego. Związki te znajdują zastosowanie zwłaszcza w rolnictwie jako regulatory wzrostu roślin.

Istota wynalazku polega na tym, że N-chronione aminokwasy białkowe lub dipeptydy o wzorze ogólnym 3, w którym X oznacza atom wodoru, a Z ogólnie znaną ochronę grupy aminowej, korzystnie grupę karbobenzoksylową lub następną resztę aminokwasu białkowego, R^1 i 2 ma podane wyżej znaczenie zadaje się 9-fluorenofosfonianami dialkilowymi-9 o wzorze ogólnym 2, w którym R^3 oznacza prostą lub rozgałęzioną grupę alkilową, przy czym proces kondensacji prowadzi się z udziałem chloromrówczanu etylu metodą mieszanych bezwodników karboksylowo-karbonowych. Z otrzymanej mieszaniny reakcyjnej wydziela się produkt w powszechnie znany sposób.

Nieoczekiwanie okazało się, że w wyniku opisanej reakcji otrzymuje się związki powodujące zmiany morfologiczne u roślin testowych. W niskich stężeniach powodują one stymulację wzrostu łodyg, zaś w wyższych wpływają na zwiększenie długości korzenia i skrócenie łodygi. W przedziale stężeń między obydwoma efektami nie wpływają na wzrost rośliny. Właściwości te zostały stwierdzone w powtarzanym teście na *Lepidium Sativum*, którą wysiewano na wacie i po wykiełkowaniu podlewano roztworem badanego peptydu stosując następujący szereg stężeń: 0,5, 5,50, 150 i $500 \cdot 10^{-5}$ mola/litr. Kultury rosły w temperaturze pokojowej przy oświetleniu słonecznym. Po upływie pięciu dni obserwowano zmiany morfologiczne i mierzono długość łodygi korzeni. Następnie obliczono względne przyspieszenie lub zahamowanie wzrostu części roślin względem roślin kontrolnych, to jest rosnących w tych samych warunkach, bez regulatora wzrostu roślin.

Poniższa tabela przedstawia zestaw wyników badań wybranych związków otrzymanych sposobem według wynalazku.

T a b e l a

Związek	stężenie M/dm ³	długość łodygi %	długość korzenia (kontrola = 100) %
1	2	3	4
1. Kwas 9-N-L-alanylo- aminofluorenofosfonowy-9	$5 \cdot 10^{-4}$	70	170
	$1,5 \cdot 10^{-3}$	70	200
	$5 \cdot 10^{-3}$	70	200
2. Kwas 9-N-L-lizyloamino- fluorenofosfonowy-9	$5 \cdot 10^{-4}$	60	100
	$1,5 \cdot 10^{-3}$	60	100
	$5 \cdot 10^{-3}$	60	100
3. Kwas 9-N-L-proliloamino- fluorenofosfonowy-9	$5 \cdot 10^{-6}$	120	100
	$5 \cdot 10^{-5}$	100	100
	$5 \cdot 10^{-4}$	100	100
	$1,5 \cdot 10^{-3}$	70	130
	$5 \cdot 10^{-3}$	70	150
4. Kwas 9-N-L-glicylgli- cyloaminofluorenofos- fonowy-9	$1,5 \cdot 10^{-3}$	60	200
	$5 \cdot 10^{-3}$	50	200
5. Kwas 9-N-L-leucyloamino- fluorenofosfonowy-9	$5 \cdot 10^{-6}$	100	120
	$5 \cdot 10^{-5}$	100	120
	$5 \cdot 10^{-4}$	100	140
	$1,5 \cdot 10^{-3}$	75	180
	$5 \cdot 10^{-3}$	75	180
6. Kwas 9-N-L-metionyloami- nofluorenofosfonowy-9	$5 \cdot 10^{-5}$	110	120
	$5 \cdot 10^{-4}$	100	100
	$1,5 \cdot 10^{-3}$	50	100
	$5 \cdot 10^{-3}$	50	100

Przedmiot wynalazku jest objaśniony w przykładach wykonania.

Przykład I. 2,8 g (0,01 mola) karbobenzynoksy-L-alaniny rozpuszcza się w 25 ml chloroformu zawierającego 1,5 ml trójetiloaminy i schładza do -5°C , po czym dodaje się 1,0 ml (0,11 mola) chloromrówczanu etylu i zostawia na pół godziny. Do otrzymanego roztworu dodaje się roztwór sporządzony przez rozpuszczenie 3,2 g (0,01 mola) 9-aminofluorenofosfonianu dietylowego-9 w 25 ml chloroformu, a następnie otrzymaną mieszaninę ogrzewa się do wrzenia. Otrzymany roztwór myje się kolejno: wodą, 5% roztworem kwasu solnego, wodą, nasyconym roztworem kwaśnego węgla sodu, wodą, solanką i suszy nad bezwodnym siarczanem magnezu. Po odsączeniu siarczana i odparowaniu rozpuszczalnika otrzymany olej rozpuszcza się w 30 ml 45% roztworu bromowodoru w lodowatym kwasie octowym i zostawia na 12 godzin.

Po tym czasie usuwa się bromowodór i kwas octowy, a pozostałość rozpuszcza się w etanolu i pożądaną peptyd wytrąca się tlenkiem propylenu. Otrzymuje się 0,75 g, co stanowi 20% wydajności teoretycznej, kwasu 9-N-L-alanyloaminofluorenofosfonowego-9- o temperaturze topnienia $186-188^{\circ}\text{C}$ z rozkładem, o skręcalności właściwej $+3^{\circ}$.

Przykład II. 3,2 g (0,01 mola) N, N'-dikarbobenzoksy-L-lizyny przeprowadza się w mieszanym bezwodniku jak w przykładzie I i wówczas dodaje się 4,1 g (0,01 mola) szczawianu 9-aminofluorenofosfonianu dietylowego-9 rozpuszczonego w 25 ml chloroformu zawierającego 3,0 ml trójetiloaminy po czym postępuje jak w przykładzie I. Otrzymuje się 2,9 g, co stanowi 65% wydajności teoretycznej, kwasu 9-N-L-lizyloaminofluorenofosfonowego-9, o skręcalności właściwej $+67^{\circ}$.

Przykład III. Do bezwodnika otrzymanego jak w przykładzie I z 2,5 g (0,01 mola) karbobenzoksy-L-treoniny dodaje się 3,75 g (0,01 mola) 9-aminofluorenofosfonianu di-n-butyloвого-9 po czym postępuje się jak w przykładzie I. Otrzymuje się 1,60 g, co stanowi 39% wydajności teoretycznej, 9-N-L-treonylofluorenofosfonowego-9 o temperaturze topnienia $158-161^{\circ}\text{C}$ z rozkładem, o skręcalności właściwej -31° .

Przykład IV. Do bezwodnika otrzymanego jak w przykładzie I z 2,5 g (0,01 mola) karbobenzoksy-L-proliny dodaje się 3,2 g (0,01 mola) 9-aminofluorenofosfonianu dietylowego-9 rozpuszczonego w 25 ml chloroformu po czym postępuje się jak w przykładzie I. Otrzymuje się 2,5 g, co stanowi 60,5% wydajności teoretycznej, kwasu 9-N-L- proliloaminofluorenofosfonowego-9 o temperaturze topnienia 275–278°C z rozkładem, o skręcalności właściwej + 10°.

Przykład V. Do bezwodnika otrzymanego jak w przykładzie I z 2,7 g (0,01 mola) karbobenzoksy-L-glicyloglicyny dodaje się 3,2 g (0,01 mola) 9-aminofluorenofosfonianu dietylowego-9 rozpuszczonego w 25 ml chloroformu po czym postępuje się jak w przykładzie I. Otrzymuje się 1,25 g, co stanowi 28% wydajności teoretycznej, kwasu 9-N-L-glicyloglicyloaminofluorenofosfonowego-9 o temperaturze topnienia 249–252°C z rozkładem, o skręcalności właściwej 0.

Przykład VI. Do bezwodnika otrzymanego jak w przykładzie I z 2,5 g (0,01 mola) karbobenzoksy-L-waliny dodaje się 3,2 g (0,01 mola) 9-aminofluorenofosfonianu dietylowego-9 rozpuszczonego w 25 ml chloroformu po czym postępuje jak w przykładzie I. Otrzymuje się 0,8 g co stanowi 20% wydajności kwasu 9-N-L-waliloaminofluorenofosfonowego-9 o temperaturze topnienia 276–8°C z rozkładem i skręcalności właściwej + 25°.

Przykład VII. Do bezwodnika otrzymanego jak w przykładzie I z 3,0 g (0,01 mola) karbobenzoksy-L- fenyloaminy dodaje się 3,6 g (0,01 mola) 9-aminofluorenofosfonianu diizopropylowego-9 rozpuszczonego w 25 ml chloroformu po czym postępuje się jak w przykładzie I. Otrzymuje się 1,0 g co stanowi 21% wydajności teoretycznej kwasu 9-N-L-fenyloalanyloaminofluorenofosfonowego-9 o temperaturze topnienia 235–7°C z rozkładem i skręcalności właściwej + 7°.

Przykład VIII. Do bezwodnika otrzymanego jak w przykładzie I z 2,7 g (0,01 mola) karbobenzoksy-L- metioniny dodaje się 3,2 g (0,01 mola) 9-aminofluorenofosfonianu dietylowego-9 rozpuszczonego w 20 ml chloroformu po czym postępuje jak w przykładzie I. Otrzymuje się 3,1 g co stanowi 70% wydajności teoretycznej kwasu 9-N-L-metioniloaminofluorenofosfonowego-9 o temperaturze topnienia 231–3°C z rozkładem i skręcalności właściwej + 60°.

Przykład IX. Do bezwodnika otrzymanego jak w przykładzie I z 2,8 g (0,01 mola) karbobenzoksy -L-glutaminy dodaje się 3,1 g (0,01 mola) 9-aminofluorenofosfonianu dimetylowego-9 i postępuje jak w przykładzie I. Otrzymuje się 1,7 g co stanowi 39% wydajności teoretycznej kwasu 9-N-L-glutaminoaminofluorenofosfonowego-9 o temperaturze topnienia 227–9°C z rozkładem i skręcalności właściwej + 35°.

Przykład X. Do bezwodnika otrzymanego jak w przykładzie I z 2,9 g (0,01 mola) karbobenzoksyalanoglicyny dodaje się 3,2 g (0,01 mola) 9-aminofluorenofosfonianu dietylowego-9 w 25 ml chloroformu po czym postępuje jak w przykładzie I. Otrzymuje się 1,3 g, co stanowi 29% wydajności teoretycznej, kwasu 9-N-L-alanyloglicyloaminofluorenofosfonowego-9 o temperaturze topnienia 265–8°C z rozkładem, o skręcalności właściwej 4°.

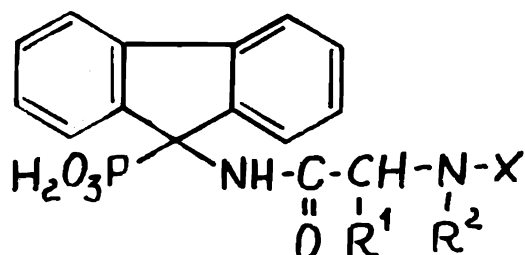
Przykład XI. Do bezwodnika otrzymanego jak w przykładzie I z 3,2 g (0,01 mola) karbobenzoksy-L- treonyloglicyny dodaje się 3,2 g (0,01 mola) 9-aminofluorenofosfonianu dietylowego-9 w 25 ml chloroformu po czym postępuje jak w przykładzie I. Otrzymuje się 1,45 g, co stanowi 33% wydajności teoretycznej, kwasu 9-N-L-treonyloglicyloaminofluorenofosfonowego-9 o temperaturze topnienia 267–270°C z rozkładem, o skręcalności właściwej –22°.

Przykład XII. Do bezwodnika otrzymanego jak w przykładzie I z 3,3 g (0,01 mola) karbobenzoksy -L-proliloglicyny dodaje się 3,2 g (0,01 mola) 9-aminofluorenofosfonianu dietylowego-9 w 25 ml chloroformu po czym postępuje jak w przykładzie I. Otrzymuje się 2,1 g kwasu 9-N-L-proliloglicyloaminofluorenofosfonowego-9, co stanowi 54% wydajności teoretycznej, o temperaturze topnienia 222–5°C z rozkładem, o skręcalności właściwej + 9°.

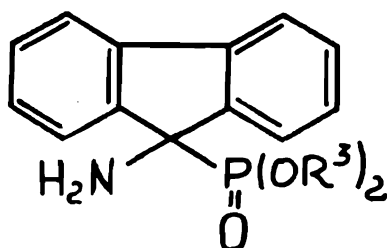
Z a s t r z e ż e n i e p a t e n t o w e

Sposób wytwarzania nowych pochodnych peptydów o wzorze ogólnym 1, w którym R¹ oznacza atom wodoru, alkil, aryl, aralkil, hydroksyalkil, karboksyalkil, aminoalkil, tioalkil, alkilotioalkil, R² oznacza wodór lub R¹ i R² stanowią mostek polimetylenowy, zaś X oznacza atom wodoru bądź następną resztę aminokwasu białkowego, **znamienny tym**, że N-chroniona aminokwasy białkowe lub diepeptydy o wzorze ogólnym 3, w którym X oznacza atom wodoru, a Z ogólnie

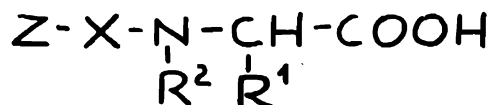
znaną ochronę grupy aminowej korzystnie grupę karbobenzoksylową lub następną resztę aminokwasu białkowego, R^1 i R^2 ma podane wyżej znaczenie zadaje się 9-fluorenofosfonianami dialkilowymi-9 o wzorze ogólnym 2, w którym R^3 oznacza prostą lub rozgałęzioną grupę alkilową, przy czym proces kondensacji prowadzi się z udziałem chloromrówczanu etylu metodą mieszanych bezwodników karboksylowo -karbonowych.



WZÓR 1.



WZÓR 2.



WZÓR 3.