

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWA



URZĄD
PATENTOWY
PRL

Egz. SŁUŻBOWY

OPIS PATENTOWY

65742

Patent dodatkowy
do patentu

Zgłoszono: 27.XI.1967 (P 123 747)

Pierwszeństwo:

Opublikowano: 20.X.1972

Kl. 12q, 6/01

CZYTELNIJA

MKP C07c 103/52
Urzędu Patentowego
Polskiej Rzeczypospolitej Ludowej

UKD

Współtwórcy wynalazku: Barbara Rzeszotarska, Łucja Kaczmarek

Właściciel patentu: Wyższa Szkoła Pedagogiczna, Opole (Polska)

Sposób wytwarzania N-etoksykarbonylo-peptydów

1

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania N-etoksykarbonylo-peptydów.

Konieczność wprowadzenia do peptydów osłony N-etoksykarbonylowej istnieje w badaniach struktury tych peptydów metodą spektrometrii masowej. Wprowadzenie osłony etoksykarbonylowej na grupę aminową peptydu bardzo ułatwia określenie sekwencji aminokwasowej.

W literaturze opisana jest bardzo stara (1900—1905) metoda wprowadzania osłony etoksykarbonylowej za pomocą chloromrówczanu etylu na grupę aminową peptydów. Sposób ten ma tę wadę, że równocześnie ma miejsce wprowadzanie tej osłony na funkcje boczne aminokwasów. Stosunkowo niedawno wspomniano w literaturze o możliwości zastosowania węglanu etylowo-N-sukcynimidylowego do wprowadzania osłony etoksykarbonylowej na grupę aminową peptydów. Brak jednakże na ten temat jakichkolwiek szczegółów eksperymentalnych. Węglan etylowo-N-sukcynimidylowy jest bardzo kosztowny.

Okazało się, że wymienionych trudności i wad można uniknąć przez zastosowanie do wprowadzenia osłony N-etoksykarbonylowej węglanu etylowo-8-chinolilowego lub etylowo-3-pirydylowego.

Sposób według wynalazku polega na tym, że na wodny roztwór soli sodowej lub potasowej peptydu działa się rozpuszczonym w dwumetyloformamidzie węglanem etylowo-8-chinolilowym lub etylowo-3-pirydylowym. Mieszaninę reakcyjną pozostawia się przez 0,5 godziny w temperaturze 20°C. W przypadku gdy mieszanina nie

2

jest jednolita przed reakcją podgrzewa się ją lekko do temperatury 30°C aż do całkowitego ujednoczenia roztworu albo mieszaninę reakcyjną wytrząsa się przez kilka godzin w temperaturze 20°C. Po skończonej reakcji odparowuje się pod zmniejszonym ciśnieniem rozpuszczalniki, dodaje wody i octanem etylu lub innym nie mieszającym się z wodą rozpuszczalnikiem ekstrahuje nieprzereagowany węglan etylowo-8-chinolilowy lub etylowo-3-pirydylowy oraz powstającą 3-hydroksypirydynę lub 8-hydroksychinolinę. Warstwę wodną wykwasza się stężonym kwasem solnym i ekstrahuje wydzielony N-karboetoksy-peptyd do octanu etylu lub innego nie mieszającego się z wodą rozpuszczalnika. Z powodu niejednokrotnie dużej rozpuszczalności N-etoksykarbonylo-peptydu w wodzie ekstrakcję należy powtórzyć wielokrotnie. Po wysuszeniu i usunięciu pod zmniejszonym ciśnieniem rozpuszczalnika otrzymuje się N-karboetoksy-peptyd.

Stosowany węglan etylowo-8-chinolilowy lub etylowo-3-pirydylowy otrzymuje się przez reakcję chloromrówczanu etylu z 8-hydroksychinoliną lub 3-hydroksypirydyną w obecności III-rzęd. aminy.

Przykład I. Do oziębionego do temperatury 0°C roztworu 1,9 g (20 mM) 3-hydroksypirydyny i 2,8 ml (20 mM) trójetiloaminy w 19,5 ml czterowodorofuranu wdroplono przy mieszaniu 1,9 ml (20 mM) chloromrówczanu etylu. Całość pozostawiono przez 48 godzin w temperaturze 20°C. Następnie odsączono wydzielony chlorowodorek trójetiloaminy, odparowano pod zmniejszonym ciśnieniem czterowodorofuran, dodano octanu

Dla C₈H₉O₃N (M = 167,15) % N obliczono — 8,37
% N znaleziono — 8,37

Dla C₈H₁₄O₅N₂ (M = 218) % N obliczono — 12,85
% N znaleziono — 12,68

4

[illegible]

25

Sposób wytwarzania N-etoksykarbonylo-peptydów, **znamienny tym**, że na roztwór wodny soli sodowej lub potasowej peptydu działa się rozpuszczonym w dwumetyloformamidzie węglanem etylowo-8-chinolilowym lub etylowo-3-pirydylowym.