



POLSKIEJ RZECZYPOSPOLITEJ LUDOWEJ

OPIS PATENTOWY

Nr 45149

Kl. 12 q, 6/01

Chinoin Gyógyszer – és Vegyészeti Termekek Gyára r. t.

Budapeszt, Węgry

Sposób wytwarzania mikrobiologicznie czynnych pochodnych polipeptydowych

Patent dodatkowy do patentu nr 44948

Patent trwa od dnia 2 czerwca 1959 r.

Pierwszeństwo: 5 czerwca 1958 r. (Węgry).

Mikrobiologicznie czynne pochodne polipeptydowe wytwarza się według patentu głównego nr 44948 w ten sposób, że dwuaminy monoacyluje się przy azocie kwasami polipeptydopolikarboksylowymi zbudowanymi z kwasów aminodwukarboksylowych lub ich pochodnymi kwasowymi.

Stwierdzono, że można otrzymać wartościowe związki, jeżeli dwuaminy monoacylowane przy azocie kwasami polipeptydo-polikarboksylowymi rozpuści się w wodzie i wodny roztwór podda dializie. Za pomocą tej metody oczyszcza się amidowe pochodne peptydowe i otrzymuje je o odpowiednim stopniu polimeryzacji, tak że możliwe jest terapeutyczne stosowanie produktu.

Pochodną peptydową, która stanowi związek zasadowy, przed dializą korzystnie przeprowadza się w sól. Korzystnie można również tak postępować, że pochodną peptydową poddaje się

dializie w jej postaci zasadowej, a tworzenie soli prowadzi się z produktem oczyszczonym. Otrzymane sole stanowią nowe związki, które mogą być z powodzeniem stosowane w farmacji.

Tworzenie soli może na ogół nastąpić przez rozpuszczenie pochodnej polipeptydowej w odpowiednim kwasie organicznym lub nieorganicznym. Tak więc, można stosować np. kwas solny, kwas siarkowy, kwas azotowy, kwas mrówkowy, kwas octowy, kwas glukonowy, kwas ftalowy itd. Korzystnie pracuje się w rozcieńczonym wodnym roztworze.

Po skończonej dializie oczyszczony produkt można przeprowadzić w stałą postać, korzystnie za pomocą licfilizacji. Jako substancje wyjściowe w sposób według wynalazku można stosować amidowane związki peptydowe, które korzystnie wytwarza się przez reakcję kwasów polipeptydopolikarboksylowych (lub ich pochodnych kwasowych) zbudowanych z alifatycznych

kwasów aminodwukarboksylowych o ogólnym wzorze $-\text{[CO-NH-(CH}_2\text{)}_n\text{-CH}^{\text{A}}\text{-(CH}_2\text{)}_n\text{]-}_x\text{CO-}$

A

w którym A oznacza resztę kwasu karboksylowego albo resztę pochodnej kwasu karboksylowego z alifatycznymi dwuaminami (np. alkilodwuaminą, jej mono- lub dwupodstawionymi przy jednym azocie pochodnymi albo ich mieszaniną). Przy wytwarzaniu tych amin polipeptydowych doprowadza się do reakcji, jak wspomniano w patencie głównym, korzystnie co najmniej 5 cząsteczek dwuaminy na każdą wolną grupę karboksylową lub grupę pochodną kwasu karboksylowego.

Przy korzystnym przeprowadzeniu sposobu według wynalazku pochodną polipeptydową otrzymaną przez monoacylowanie dwuaminy z wyżej wymienionym polipeptydem rozpuszcza się w odpowiednim kwasie (np. w rozcieńczonym kwasie solnym), roztwór poddaje się dializie i po usunięciu części nierozpuszczalnych liofilizuje się, przy czym otrzymuje się produkt w postaci stałej substancji.

Wytworzone w ten sposób sole stosowano ze szczególną korzyścią przy leczeniu ran.

Przykład I. 8 g sproszkowanego estru γ -metylowego kwasu α -poli-L-glutaminowego ogrzewa się w ciągu 1 godziny z 50 ml jednowodzianu etylenodwuaminy w temperaturze 134°C, po czym nadmiar etylenodwuaminy usuwa się pod zmniejszonym ciśnieniem. Pozostałość suszy się nad kwasem siarkowym, rozpuszcza w 4%-owym kwasie solnym i następnie poddaje dializie. Otrzymany roztwór odsącza się od ewentualnie nierozpuszczalnych części i liofilizuje. Sól kwasu solnego zasadowej pochodnej kwasu poliglutaminowego otrzymuje się z wydajnością około 50%.

Związek ten w stężeniu 5 gamma/ml hamuje rozwój *Staphylococcus-Wood*, w stężeniu 20 gamma/ml wzrasta *Bacterium subtilis*. Działanie produktu na świnkę morską zainfekowaną bakteriami H₃₇RV-TBC jest tego samego rzędu jak działanie INH zarówno doustnie jak i podskórnie.

Przykład II. 4 g drobno sproszkowanego estru γ -metylowego kwasu α -poli-L-glutaminowego ogrzewa się w ciągu 1 godziny z 20 ml bezwodnej putrescyny. Nadmiar putrescyny usuwa się przez destylację próżniową. Produkt suszy się w eksykatorze nad kwasem siarkowym i rozpuszcza w rozcieńczonym kwasie solnym. Roztwór poddaje się dializie i w końcu liofilizuje.

je. Sól kwasu solnego otrzymuje się z wydajnością około 50%.

Przykład III. Zamidowany produkt otrzymany z 7,2 g kwasu D, L-anhydropoliasparaginowego i 24 ml bezwodnej etylenodwuaminy rozpuszcza się w rozcieńczonym kwasie solnym i dializuje w ciągu 24 godzin. Pozostały wodny roztwór zagęszcza się pod zmniejszonym ciśnieniem i liofilizuje. Otrzymuje się 4 g żółtawego, bezpostaciowego, hydroskopijskiego produktu, który jest łatwo rozpuszczalny w wodzie. Produkt ten w stężeniu 100 gamma/ml przeciwdziała rozwojowi szczepu *Staphylococcus-Wood* i *Bacterium subtilis*.

Przykład IV. Zamidowany produkt wytworzony z 0,5 g estru γ -metylowego kwasu α -poli-D-glutaminowego i 3 ml etylenodwuaminy rozpuszcza się w 5 ml 4%-owego kwasu solnego i poddaje dializie. Roztwór pozostały po dializie liofilizuje się, przy czym otrzymuje się 100 mg białego, bezpostaciowego produktu, łatwo rozpuszczalnego w wodzie.

Przykład V. 30 ml N, N-dwuetyloaminoetyloaminy acyluje się 10 g estru γ -metylowego kwasu α -poli-L-glutaminowego. Otrzymany suchy produkt rozpuszcza się w 4%-owym kwasie solnym, poddaje dializie i liofilizuje. Otrzymuje się 13 g białego, bezpostaciowego, błyszczącego produktu.

Otrzymany produkt w stężeniu 100 gamma/ml przeciwdziała rozwojowi *Bacterium subtilis*. Przy stężeniu 20 gamma/ml zostaje zahamowany rozwój *Microbacterium friburgiensis*, a przy stężeniu 10–20 gamma/ml *Microbacterium smegmatis*.

Przykład VI. 15 g N, N-dwuetyloaminoetyloaminy acyluje się 5 g estru γ -metylowego kwasu α -poli-L-glutaminowego. Suchy produkt rozpuszcza się w 3%-owym kwasie solnym, poddaje dializie, przesącza, zagęszcza w próżni i liofilizuje. Otrzymuje się 3 g bezpostaciowego produktu. Produkt ten jest czynny w stosunku do mikrobakterii. Stężenie 2,5 gamma/mg działa hamująco na rozwój szczepu *Staphylococcus-Wood*.

Przykład VII. 25 g estru γ -metylowego kwasu α -poli-L-glutaminowego zawieszają w 200 ml N, N-dwuetyloaminoetyloaminy, a mieszaninę reakcyjną ogrzewa w ciągu 3 godzin na łaźni olejowej, ogrzewanej do temperatury 130–140°C. Nadmiar aminy odpędza się w próżni, pozostałość trzykrotnie ekstrahuje 200 ml eteru i eter dekantuje. Pozostałość roz-

puszcza się w schłodzonym lodem rozcieńczonym kwasie solnym, poddaje dializie i liofilizuje. Otrzymuje się 24 g hygroskopijnego produktu, który w stężeniu 20 gamma/ml hamuje rozwój *Staphylococcus Aureus*-Wodd i rodzaje *Bacterium subtilis*.

Przykład VIII. 1 g estru γ -metylowego kwasu α -poli-L-glutaminowego ogrzewa się w ciągu 2 godzin z 5 g monoacetyloetylenodwuminy do temperatury 130–140°C. Po ochłodzeniu polimer wytrąca się metanolem i eterem. Otrzymany osad przesącza się, rozpuszcza w eterze, poddaje dializie i liofilizuje. Otrzymuje się 0,4–0,6 g białego proszku, który jest dobrze rozpuszczalny w wodzie i daje roztwór obojętny. Reakcja biuretowa jest pozytywna.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania mikrobiologicznie czynnych pochodnych polipeptydowych według patentu nr 44948 przez monoacylowanie przy azocie dwuamin kwasami polipeptydopolikarboksylowymi lub ich pochodnymi kwasowymi, składającymi się z członów kwasów aminodwukarboksylowych, znamienny tym, że acylowany produkt rozpuszcza się w wodzie i wodny roztwór poddaje dializie.
2. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że poddaje się obróbce pochodne polipeptydowe, przy których wytworzeniu na każdą ulegającą zamidowaniu grupę karboksylową polipeptydu zastosowano co najmniej 5 cząstek dwuaminy.
3. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że do wytworzenia wodnego roztworu stosuje się organiczną lub nieorganiczną sól zasadowej pochodnej polipeptydowej.
4. Sposób według zastrz. 1, znamienny tym, że pochodną polipeptydową po dializie przeprowadza się w sól organiczną lub nieorganiczną.
5. Sposób według zastrz. 1–4, znamienny tym, że w celu otrzymania stałego produktu wodny roztwór pochodnej polipeptydowej, oczyszczony przez dializę, poddaje się liofilizacji.
6. Sposób według zastrz. 1–5, znamienny tym, że jako polipeptyd stosuje się pochodną kwasu poliglutaminowego, korzystanie ester alkilowy kwasu poliglutaminowego.

Chinoín Gyógyszer — és Vegyészeti
Termek Gyára r. t.

Zastępca: mgr J. Kamiński,
rzecznik patentowy