

232

POLSKA
RZECZPOSPOLITA
LUDOWAURZĄD
PATENTOWY
PRL

OPIS PATENTOWY

104564

Patent dodatkowy
do patentu _____

Zgłoszono: 05.08.76 (P. 191684)

Pierwszeństwo: _____

Zgłoszenie ogłoszono: 13.02.78

Opis patentowy opublikowano: 29.11.1980

Int. Cl.³. C07C 103/52

Twórcy wynalazku: Władysław Traczyk, Andrzej Lipkowski, Stefania Drabarek,
Tadeusz Majewski, Zdzisław Nojek
Uprawniony z patentu: Akademia Medyczną Łódź (Polska)

Sposób wytwarzania nowego amidu sześćiopeptydu

Przedmiotem wynalazku jest sposób wytwarzania nowego amidu sześćiopeptydu L-pyroglutamylo-L-fenylalanylo-L-fenylalanylo-glicylo-L-leucylo-L-metioniny, mającego zastosowanie do badań fizjologiczno-farmakologicznych w medycynie i biologii oraz w przemyśle farmaceutycznym i chemii organicznej.

Amid pGLu-Phe-Phe-Gly-Leu-Met-NH₂ jest analogiem Substancji P-jedenastopeptydu o silnej aktywności wazodepresyjnej, wyodrębnionego z ekstraktów mózgowych ssaków.

Amid sześćiopeptydu, którego synteza jest przedmiotem wynalazku w prowadzonych tekstach biologicznych na szczurach wykazywał aktywność wazodepresyjną zbliżoną do aktywności Substancji P.

Znany sposób syntezy Substancji P i jej fragmentów jest opisany przez J. Bergmanna, M. Dienerta, H. Niedricha, B. Mehlixa, P. Oehma w czasopiśmie EXPERIENTIA, Szwajcaria, 30, 401–403, 1974 r. i polega na tym, że Substancję P lub jej fragmenty otrzymuje się drogą kolejnego dołączania N-blokiowanego aminokwasu, a następnie po odblokowaniu grupy aminowej powstałego peptydu dołącza się następny aminokwas itd. Niedogodnością znanego sposobu jest długotrwałe, mało wydajne i pracochłonne prowadzenie syntezy. Dodatkowo obecność reszty aminokwasowej metioniny na C-końcu syntetyzowanego peptydu ogranicza w opisanej metodzie, stosowanie niektórych metod syntezy (np. ochronę grupy aminowej za pomocą benzyloksykarbonylu lub też usuwania grup ochronnych za pomocą wodorowania).

Celem wynalazku jest opracowanie dogodnej metody syntezy amidu L-pyroglutamylo-L-fenylalanylo-L-fenylalanylo-glicylo-L-leucylo-L-metioniny, która będzie mogła być zastosowana w syntezie na skalę półtechniczną lub techniczną.

Istota sposobu według wynalazku polega na tym, że amid L-pyroglutamylo-L-fenylalanylo-L-fenylalanylo-glicylo-L-leucylo-L-metioniny powstaje wskutek sprzęgania L-pyroglutamylo-L-fenylalanylo-L-fenylalanylo-L-glicylo-L-leucylo-L-metioniny w obecności N',N'-dwucykloheksylokarbodiimidu i N-hydroksybenzotriazolu. Reakcja sprzęgania L-pyroglutamylo-L-fenylalanylo-L-fenylalanylo-L-glicylo-L-leucylo-L-metioniny następuje również w obecności chloromrówczanu izobutyli i trójetylaminy lub metylomorfoliny.

Oczyszczanie produktu przeprowadza się poprzez wytrącanie peptydu z roztworu N',N'-dwumetyloformamidu roztworem wodnym węglanu sodowego lub potasowego, oraz wodnym roztworem kwasu cytrynowego lub solnego i wodą.

Zaletą sposobu według wynalazku jest prostsza, tańsza i krótsza metoda wytwarzania, polegająca na sprzęganiu ze sobą pGlu-Phe-Phe z Gly-Leu-Met-NH₂, dzięki czemu otrzymany amid sześćiopeptydu jest czystszy, a wydajność procesu jest większa od wydajności otrzymywanych przy stosowaniu innego schematu syntezy proponowanego dla fragmentów Substancji P.

Przedmiot wynalazku jest przedstawiony w niżej wymienionych przykładach wykonania.

P r z y k ł a d I. 1 mmol L-pyroglutamylo-L-fenylalaniny i 1 mmol amidu glicylo-L-leucylo-L-metioniny rozpuszcza się w 10–20 częściach objętościowych dwumetyloformamidu, po czym dodaje się 1,0–1,5 mmola hydroksybenzotriazolu i po oziębieniu całości do temperatury od –20° do 0°C dodaje się 1,0–1,2 mmola dwucykloheksylokarbodwuimidu. Po upływie dalszych 1–2 godzin doprowadza się roztwór do temperatury 15–25°C i po upływie dalszych 10 godzin dodaje się do całości 0,02 mmola kwasu octowego, wskutek czego całkowicie wytrąca się osad produktu ubocznego dwucykloheksylomocznika, który się odsąca i przemywa 3 częściami objętościowymi dwumetyloformamidu, a z całego przesącza wytrąca się amid L-pyroglutamylo-L-fenylalaniny i L-fenylalaniny glicylo-L-leucylo-L-metioniny wskutek dodania 80 części objętościowych wodnego roztworu 1% węglanu sodowego lub potasowego. Otrzymany osad przekształca się z 20 części objętościowych dwumetyloformamidu rozcieńczonego 1% kwasem cytrynowym, a następnie wodą do 100 części objętościowych. Otrzymany proszek krystaliczny ma temperaturę topnienia 233–235°C.

Wydajność gotowego produktu z tego procesu wynosi 70–80%.

P r z y k ł a d II. Po rozpuszczeniu 1 mmola L-pyroglutamylo-L-fenylalaniny i L-fenylalaniny oraz 1 mmola amidu glicylo-L-leucylo-L-metioniny w 20 częściach objętościowych dwumetyloformamidu, całość oziębia się do temperatury od –25 do –10°C i dodaje się 1,2 mmola chloromrówczanu izobutyli, a następnie 1,2 mmola trójetylaminy lub metylomorfoliny. Po upływie 1 godziny temperaturę doprowadza się do 15–25°C i po upływie dalszych 2 godzin, wskutek dodania 100 części objętościowych 1% wodnego roztworu węglanu sodowego lub potasowego, wytrąca się osad amidu L-pyroglutamylo-L-fenylalaniny i L-fenylalaniny glicylo-L-leucylo-L-metioniny. Otrzymany osad przekształca się według przykładu I. Proszek krystaliczny ma temperaturę topnienia 228–234°C.

Wydajność gotowego produktu tego procesu wynosi 50–55%.

Zastrzeżenia patentowe

1. Sposób wytwarzania nowego amidu sześćiopeptydu L-pyroglutamylo-L-fenylalaniny i L-fenylalaniny glicylo-L-leucylo-L-metioniny, z n a m i e n n y t y m, że sprzęga się L-pyroglutamylo-L-fenylalaninę z amidem glicylo-L-leucylo-L-metioniny w obecności N,N'-dwucykloheksylokarbodwuimidu i hydroksybenzotriazolu.

2. Sposób według zastrz. 1, z n a m i e n n y t y m, że otrzymany produkt oczyszcza się przez wytrącanie z roztworu w dwumetyloformamidzie roztworem wodnym węglanu sodowego lub potasowego, oraz wodnym roztworem kwasu cytrynowego lub kwasu solnego i wodą.

3. Sposób wytwarzania nowego amidu sześćiopeptydu L-pyroglutamylo-L-fenylalaniny i L-fenylalaniny glicylo-L-leucylo-L-metioniny, z n a m i e n n y t y m, że sprzęga się L-pyroglutamylo-L-fenylalaninę z amidem glicylo-L-leucylo-L-metioniny w obecności chloromrówczanu izobutyli i trójetylaminy lub metylomorfoliny.

4. Sposób według zastrz. 3, z n a m i e n n y t y m, że otrzymany produkt oczyszcza się przez wytrącanie z roztworu w dwumetyloformamidzie roztworem wodnym węglanu sodowego lub potasowego, oraz wodnym roztworem kwasu cytrynowego lub kwasu solnego i wodą.