



277858

P A T E N T E  
D E  
I N V E N C I O N

por "UN PROCEDIMIENTO PARA LA FABRICACION DE PEPTIDOS",  
a favor de la firma suiza F. HOFFMANN-LA ROCHE & CO. A.G.,  
domiciliada en BASILEA (Suiza).

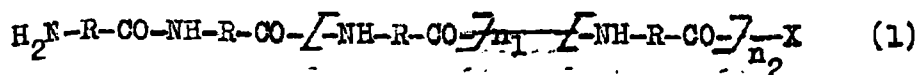
= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

Este invento se refiere a nuevos derivados péptidos y a un procedimiento para su fabricación.

Los nuevos derivados péptidos proporcionados por este invento son compuestos de la fórmula general I

5.



10.

en que  $n_1$  y  $n_2$  representan cada uno cero o la unidad,  
X representa un grupo hidroxilo, alcoxi, amino, alquilamino, dialquilamino o hidrazino y cada

277858



5. R representa el radical de un ácido alfa-aminocarboxílico exento de sus grupos alfa-amino y carboxilo; uno por lo menos de estos radicales lleva un grupo amino y la molécula contiene por lo menos un grupo alifático de cadena larga, elegido entre el grupo constituido por un substituyente acilo alifático de cadena larga en un grupo amino de componente aminoácido que no participa en un enlace péptido y un substituyente alifático de cadena larga comprendido por X cuando X representa un grupo alquilamino o dialquilamino,

y sus sales de adición de ácido.

15.

Los compuestos de la fórmula I anterior son dipéptidos, tripéptidos o tetrapéptidos derivados de ácidos alfa-aminocarboxílicos tales como la serina, la fenilalanina, la tirosina, la leucina, la lisina, la arginina, la ornitina, el ácido alfa,gamma-diamino-butírico y el ácido alfa,beta-diamino-propiónico (en particular la lisina y los ácidos básicos) y están ligados en forma alfa-amida. Los compuestos preferidos son los dipeptidos y los compuestos que tienen como "piedras de construcción" aminoácidos ópticamente activos tales como la L-lisina (con preferencia, los ácidos L). Otras preferencias comprenden los compuestos de la fórmula I en que los valores alcoxi de X son grupos de alcoxi inferior (tales como metoxi o etoxi, por ejemplo) y el grupo acilo alifático de cadena larga contiene por lo menos 10 átomos de carbono (tales como palmitoilo o estearoilo, por ejemplo) así como

20.

25.

30.

277858



- los compuestos en que los valores alquilamino o dialquilamino de X contienen un grupo alquilo provisto de 10 átomos de carbono por lo menos (tales como cetilo o laurilo, por ejemplo). Una modalidad más estrictamente preferida es la de los compuestos de la fórmula I en que el grupo alifático de cadena larga contiene 12 a más átomos de carbono. La expresión "alifático" comprende, tal como aquí se usa, tanto las porciones alquilo de cadena recta (por ejemplo, palmitoilo) como de cadena ramificada (por ejemplo, fitanoilo), y asimismo los grupos alquilo saturados (por ejemplo, pentadecanoilo) e insaturados (por ejemplo, undecanoilo). Los grupos alifáticos de cadena larga preferidos contienen a lo sumo 20 átomos de carbono. Grupos alifáticos de cadena larga que se prefieren particularmente son los que tienen de 14 a 18 átomos de carbono.

Se apreciará que los símbolos R consecutivos de la fórmula I pueden representar radicales iguales o diferentes derivados de ácidos alfa-aminocarboxílicos. Esto se desprende de los ejemplos siguientes de compuestos preferidos:

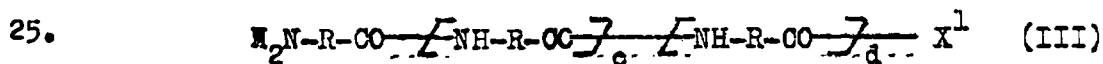
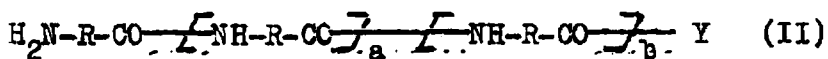
- $\overline{N^{\alpha}}$ -palmitoil-L-lisil-L-lisina,
- L-lisil- $\overline{N^{\epsilon}}$ -palmitoil-L-lisina,
- ácido  $\overline{N^{\alpha}}$ -palmitoil-L-(alfa, gamma-diamino-butiril)-L-(alfa, gamma-diamino-butírico),
- ácido L-(alfa, gamma-diamino-butiril)-L- $\overline{N^{\delta}}$ -palmitoil-L-(alfa, gamma-diamino-butírico)
- ( $N^{\alpha}$ -palmitoil-L-ornitil)-L-arginina,
- ( $N^{\epsilon}$ -palmitoil-L-ornitil)-L-ornitina,
- ( $N^{\alpha}$ -palmitoil-L-arginil)-L-arginina,



277856

y sus ésteres (en especial los ésteres metílico y etílico), amidas e hidrazidas.

5. Los compuestos de la fórmula I y sus sales de adición de ácido se fabrican de acuerdo con este invento por un procedimiento ya de sí conocido en la química de los péptidos. Así, por ejemplo, pueden sintetizarse a partir de los ácidos alfa-aminocarboxílicos protegidos apropiados o péptidos protegidos apropiados, con empleo de agentes de condensación o por medio de anhídridos mixtos, azidas, ésteres activados o cloruros de ácido, hidrolizándose la función carboxilo terminal para convertirla en un grupo carboxilo libre, si es necesario, o convirtiéndola en un grupo amido, N-alquil-amino, N,N-dialquil-amido e hidrazido, eliminándose luego los productos protectores y convirtiéndose el compuesto péptido resultante, si se desea, en una sal, y el grupo acilo de cadena larga puede introducirse por intercambio con un grupo protector que puede escindir-se selectivamente.
- 10.
- 15.
20. Según una modalidad preferida del procedimiento, los compuestos de las fórmulas generales II y III



en que a, b, c y d representan cada uno cero o la unidad, pero totalizan 0, 1 o 2,

30. Y representa un átomo de halógeno o un grupo hidroxilo, azido, fenoxi, nitro-fenoxi o fenil-mercapto o el radical de un anhídrido con un ácido inorgánico u orgánico.

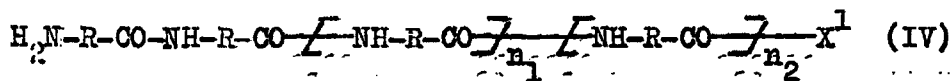
277858



5.  $X^1$  representa un grupo alcoxi, amino, alquil-amino, dialquil-amino o un grupo hidroxil en forma de una sal con una base inorgánica u orgánica y cada R representa el radical de un ácido alfa-aminocarboxílico exento de su grupo alfa-amino y carboxilo, llevando por lo menos uno de esos radicales un grupo amino y estando todos los grupos amino, con la excepción del que termina la cadena de la fórmula III en su extremo izquierdo, protegidos por grupos protectores eliminables y/o grupos acilo de cadena larga,
- 10.

se condensan junto con la escisión del compuestos H-Y para formar un di péptido, tripéptido o tetrapéptido de la fórmula general IV

15.



en que R y  $X^1$  tienen el significado expresado antes,  $n_1$  y  $n_2$  representan cero o la unidad y todos los grupos amino están protegidos del modo indicado al tratar de las fórmulas II y III anteriores,

20.

25. los péptidos que no contienen grupo N-acilo de cadena larga ni contienen en el grupo  $COX^1$  terminal un sustituyente N-alquilo de cadena larga se convierten luego en los péptidos correspondientes, que se substituyen con grupos N-acilo o N-alquilo de cadena larga por cambio de los grupos protectores eliminables selectivamente para un grupo acilo de cadena larga por lo menos, o por la introducción de un
- 30.



277858

substituyente N-alquilo de cadena larga en la función carboxilo terminal, el producto resultante se convierte en una hidrazida si es necesario, los grupos protectores eliminables se escinden de los péptidos resultantes y, si se desea, los productos se convierten en sales de adición de ácido.

5.

Los compuestos de la fórmula I anterior forman sales de adición de ácido tanto con ácidos inorgánicos como orgánicos, tales como los ácidos halohídricos, el ácido fosfórico, el ácido nítrico, el ácido acético, el ácido fórmico y análogos.

10.

Como es corriente en la química de los péptidos, los grupos reactivos que no participan en la formación del péptido se protegen antes de la reacción de condensación que implica la escisión de  $\text{HY}$ . Esta protección se logra

15.

facilmente, en el caso del grupo carboxilo, por conversión en un éster o una amida correspondientes o por la formación de sal con una base terciaria inorgánica u orgánica. Los

20.

grupos amino libres pueden, por ejemplo, protegerse por conversión en grupos benciloxicarbonilamino (esto es, sus correspondientes grupos carbobenzoxi), por ejemplo por la acción de cloruro de benciloxicarbonilo en una reacción de Shotten-Baumann. Los grupos protectores carbobenzoxi

25.

pueden a continuación escindirse por hidrogenación catalítica. Asimismo, en cuanto concierne a la condensación, los grupos N-acilo de cadena larga pueden ellos mismos servir de grupos protectores. Los grupos amino de los aminoácidos o péptidos intermediarios pueden también protegerse mediante su conversión en derivados de ftalilo;

30.

por ejemplo, calentando el aminácido o el péptido con

277858



5. anhídrido de ácido ftálico. En esta modalidad, los grupos protectores ftalilo pueden eliminarse del grupo amino protegido después de la condensación, por adición de hidrazina y tratamiento con ácido clorhídrico. Los grupos amino pueden también protegerse por formilación, haciendo reaccionar los aminoácidos o péptidos intermedarios con ácido fórmico en presencia de anhídrido acético.

10. Teniendo uno o más de los grupos amino protegidos por un grupo protector formilo y uno o más grupos amino protegidos por un grupo carbobenzoxi, es posible eliminar selectivamente una clase de los grupos protectores, ya que unicamente los grupos carbobenzoxi son eliminables por hidrogenación catalítica o por la acción de una mezcla de ácido bromhídrico y ácido acético, en tanto que unicamente los grupos formilo se eliminan por acción de ácidos minerales en frío. Así es posible introducir el substituyente N-acilo de cadena larga inmediatamente después de la condensación. Esta introducción puede efectuarse, por ejemplo, mediante la acción de un cloruro de ácido apropiado, tal como verbigracia el cloruro de palmitoilo.

15.

20.

25. Las sinopsis que siguen ilustran los métodos disponibles para preparar los compuestos de este invento:

277858



Método de la carbodiimida

- Este método es aplicable cuando se usa como material de partida un compuesto de la fórmula II anterior en que Y es hidroxilo, esto es, un aminoácido, dipéptido o tripéptido que lleva un grupo carboxílico libre terminal. El método comprende efectuar la condensación de un material de partida de la fórmula II, en que Y es hidroxilo, con un material de partida de la fórmula III en presencia de un agente de condensación, tal como una carbodiimida, por ejemplo dicitclohexilcarbodiimida o carbonildiimidazol. La condensación se efectúa ventajosamente en un disolvente y a temperatura baja. Disolventes apropiados son los disolventes orgánicos tales como el cloroformo, la N,N-dimetilformamida, el acetato de etilo o análogos. La urea formada por el agente de condensación puede separarse por filtración, y el producto péptido, que permanece en solución, puede aislarse del filtrado.
- 5.
- 10.
- 15.
- 20.

277858



Método de la azida

5. Este método comprende la formación del péptido por la interacción de una azida de ácido ( $Y = N_3$ ) y un grupo amino. La azida de ácido puede obtenerse por acción de ácido nitroso sobre la hidrazida correspondiente. La reacción puede llevarse a cabo adecuadamente a temperaturas bajas y en un disolvente, por ejemplo un disolvente orgánico tal como el acetato de etilo, la dimetilformamida o análogos, y si se desea en presencia de ácido acético.
- 10.

Método del cloruro de ácido

15. Este método comprende la formación del péptido por reacción de un grupo de cloruro de ácido ( $Y = Cl$ ) con un grupo amino. Puede copularse convenientemente un cloruro de ácido carbobenzoxi amino (obtenido por la acción del cloruro de tionilo) con un éster de aminoácido ( $X^1 = \text{alcoxi}$ ) en frío y en presencia de una base.

20.

Método que utiliza anhídridos mixtos

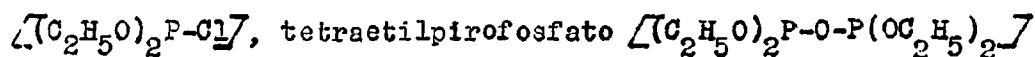
25. Este método comprende el usar para la condensación un compuesto que tiene como su función carboxilo (es decir,  $-CO-Y$ ) un radical anhídrido mixto formado con un ácido orgánico o inorgánico. De conveniencia, un compuesto carboxilo de la fórmula II anterior ( $Y = OH$ ) se trata en un disolvente inerte (tetrahidrofurano) con una base, por ejemplo trietilamina, la sal resultante se hace reaccionar con un éster de ácido clorocarbónico a temperatura baja y el anhídrido mixto resultante se hace
- 30.



reaccionar, sin aislamiento, con un éster de aminoácido ( $X^1 = \text{alcoxi}$ ) o una sal sódica de la fórmula III anterior ( $X^1 = \text{ONa}$ ). Ejemplos de los ésteres de ácido

clorocarbónico que pueden emplearse son los ésteres alquí-

5. licos inferiores tales como los ésteres metílico, etílico o butílico terciario de ácido clorocarbónico. El anhídrido activo puede prepararse también empleando trióxido de azufre en dimetilformamida, dietilfosforocloridita



10. o análogos.

Método que utiliza éster activo

Este método comprende el usar como material de partida de la fórmula II anterior un compuesto en el que la función carboxilo ( $-\text{COY}$ ) es un grupo llamado de éster activo, tal como por ejemplo  $\text{COY} = \text{éster p-nitrofenílico}$ . Este éster activo puede obtenerse a partir de un aminoácido protegido y di(p-nitrofenil)-sulfito

15.  $(\text{NO}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NO}_2)$  en presencia de piridina, y por reacción a temperatura ambiente con un éster de aminoácido de la fórmula III ( $X^1 = \text{alcoxi}$ ) da el compuesto péptido deseado, que luego puede acabarse por cristalización. Ejemplos de grupos apropiados de éster activo son los grupos de
20. éster p-nitrofenílico, 3,5-dinitrofenílico, tiofenílico y
25. análogos.

Los compuestos de la fórmula I anterior y sus sales de adición de ácido tienen actividad antibacteriana, tanto contra las bacterias patógenas y apatógenas grampositivas o gramnegativas como contra los fermentos. Tienen

- 30.

277850



toxicidad solamente muy ligera. Se descomponen por influencia de las enzimas proteolíticas, para dar productos de fisión que no manifiestan ya actividad antibacteriana. Se los puede emplear, por lo tanto, como preservadores y desinfectantes.

5.

Se apreciará que los compuestos de la fórmula  $H_2N-R-CO-Y$ , en que R representa un grupo aminometil-metileno, aminoetil-metileno, aminopropil-metileno, aminobutil-metileno o (3-guanidino-propil)-metileno e Y representa

10.

un grupo hidroxí o alcoxi en que uno de los dos grupos amino está substituído por un grupo acilo alifático, saturado o insaturado, de cadena larga, que contiene por lo menos 10 átomos de carbono, y el otro está protegido por un grupo protector eliminable, son también compuestos nuevos y forman parte de este invento. Compuestos preferidos

15.

de este tipo son:

-  $N^\alpha$ -palmitoil- $N^\gamma$ -carbобензоxi-L-ornitina,

-  $N^\alpha$ -palmitoil- $N^\epsilon$ -carbобензоxi-L-lisina,

-  $N^\alpha$ -palmitoil- $N^\epsilon$ -carbобензоxi-D-lisina,

20.

-  $N^\alpha$ -palmitoil- $N^\epsilon$ -carbобензоxi-D,L-lisina,

-  $N^\alpha$ -estearoil- $N^\epsilon$ -carbобензоxi-L-lisina,

-  $N^\alpha$ -lauroil- $N^\epsilon$ -carbобензоxi-L-lisina,

- ácido  $N^\alpha$ -palmitoil- $N^\gamma$ -carbобензоxi-(L-alfa,gamma-diamino-butírico),

25.

-  $N^\alpha$ -caprinoil-N-carbобензоxi-L-lisina y

-  $N^\alpha$ -[undecenoil-(10)]-( $N^\epsilon$ -ftaloil)-L-lisina.

Se apreciará también que la  $N^\epsilon$ -palmitoil-L-lisina y sus ésteres alquílicos inferiores, así como el ácido  $N^\gamma$ -palmitoil-(L-alfa,gamma-diamino-butírico) y sus ésteres, son productos nuevos y forman parte de este

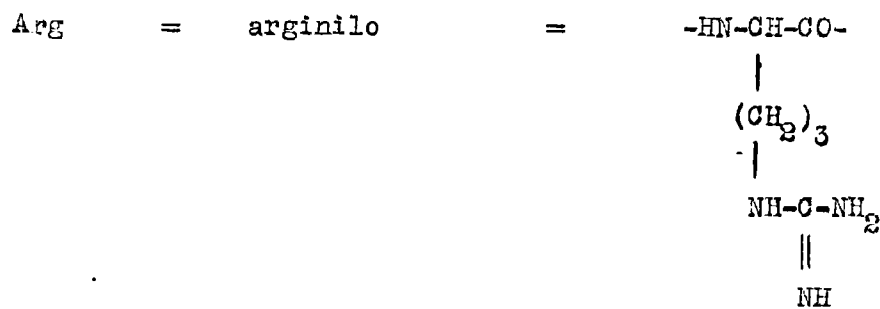
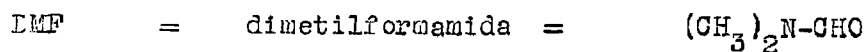
30.



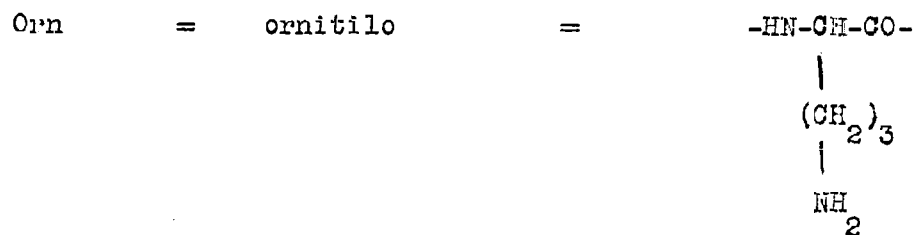
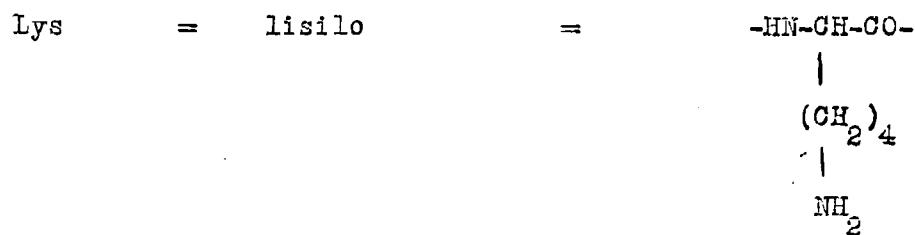
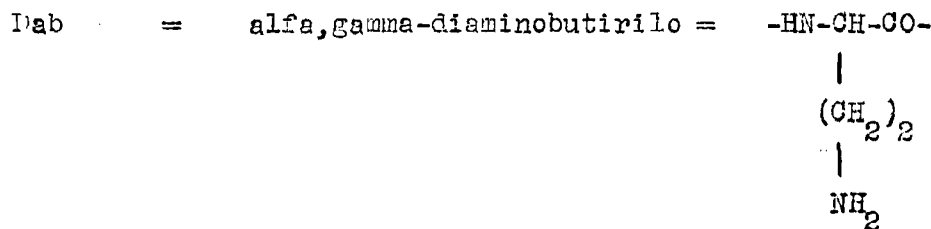
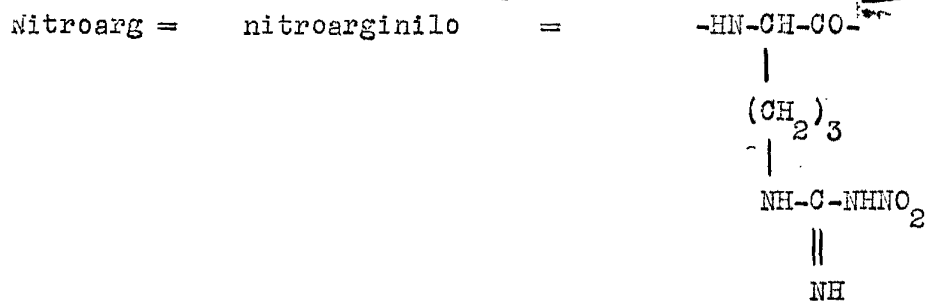
277858

invento.

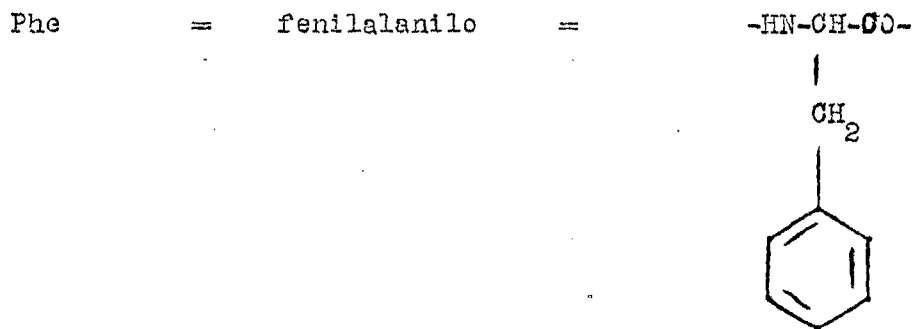
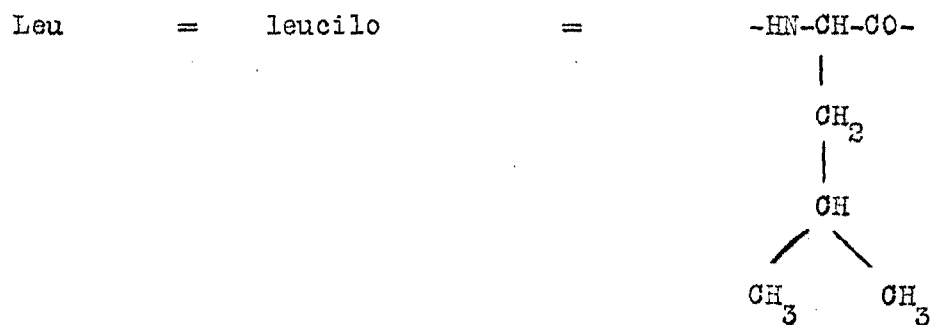
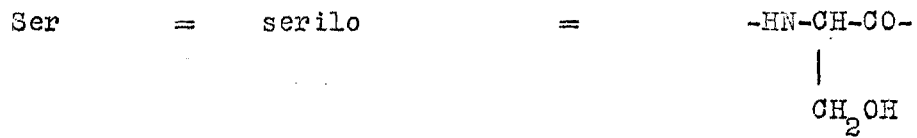
En los ejemplos se utilizan las abreviaciones siguientes:



277858



277858

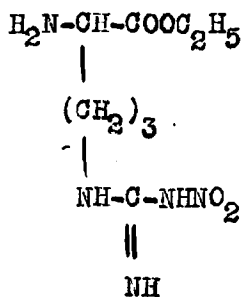




277858



5.



que en los ejemplos que siguen se expresa por  
 10.  $\text{E-L-Nitroarg-OC}_2\text{H}_5$ .

Los ejemplos que a continuación se exponen ilustran el invento, pero sin limitarlo. Todas las temperaturas están registradas en grados centígrados.

15. E J E M P L O 1.



100 g de  $\text{N}^\alpha\text{-Palm-(N}^\epsilon\text{-Z)-L-Lys-OH}$  y 57 g de  $\text{H-(N}^\epsilon\text{-Z)-L-Lys-OCH}_3$  se disolvieron en 230 cc de dimetilformamida, se enfriaron hasta  $-10^\circ$ , se trataron con

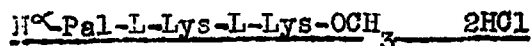
20. 40,8 g de dicitclohexilcarbodiimida y se dejaron reposar a  $0^\circ$  durante 16 horas. El gel espeso así formado se diluyó con 50 cc de dimetilformamida, se calentó hasta  $50^\circ$ , se enfrió hasta  $20^\circ$  y se filtró con succión

25. de la dicitclohexilurea. El filtrado se mezcló con 4 litros de solución de cloruro sódico al 5% y al cabo de 1 hora el precipitado resultante se filtró con succión, se lavó con agua y se secó en vacío a  $70^\circ$ . Después de recristalización en acetato de etilo/éter de petróleo, se  
 30 obtuvo  $\text{N}^\alpha\text{-Palm-(N}^\epsilon\text{-Z)-L-Lys-(N}^\epsilon\text{-Z)-L-Lys-OCH}_3$ , de punto



277358

de fusión 123-125°;  $[\alpha]_D^{20} = 8,4^{\circ}$  (c = 2 en DMF).



5. 50 g de N<sup>α</sup>-Palm-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-OCH<sub>3</sub> se disolvieron en calentamiento en 50 cc de ácido acético glacial, y se sacudieron, con exclusión de la humedad, durante 1 1/2 horas y a 20° con 150 cc de ácido bromhídrico/ácido acético glacial al 33%. Luego se desgasificó la mezcla durante 15 minutos en vacío de chorro de agua, se la diluyó con 150 cc de agua y se la extrajo con éter por dos veces. A continuación, añadiendo hielo, se alcalinizó la fase acuosa con amoníaco concentrado y se la extrajo varias veces con acetato de etilo. Los extractos de acetato de etilo se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron en vacío a 40°. El jarabe residual se disolvió en 20 cc de metanol y se ajustó a pH 7 con ácido clorhídrico metanólico 4-n, y la solución neutra así formada se evaporó en vacío a 40°. El residuo así obtenido se cristalizó luego en acetona, con lo que se obtuvo N<sup>α</sup>-Palm-L-Lys-L-Lys-OCH<sub>3</sub> . 2HCl, de punto de fusión 210-212° (descomposición);  $[\alpha]_D^{20} = -17^{\circ}$  (c = 2 en agua).



277858

N<sup>α</sup>-Palm-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-OH

5. 26 g de N<sup>α</sup>-Palm-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-OCH<sub>3</sub> se disolvieron en 1 litro de metanol y se saponificaron durante 16 horas y a 20° con 50 cc de hidróxido sódico 2-n. Luego se filtró la mezcla reaccional y el filtrado se concentró en vacío a 35° hasta un volumen de 100 cc, se mezcló con 1 litro de ácido clorhídrico 0,01-n, se filtró con succión y el precipitado se lavó con agua y se secó en vacío a 70°. El residuo así obtenido se cristalizó en acetato de etilo/éter de petróleo y de ese modo se obtuvo N<sup>α</sup>-Palm-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-OH de punto de fusión 129-131°.

N<sup>α</sup>-Palm-L-Lys-L-Lys-OH . HCl

15. 16 g de N<sup>α</sup>-Palm-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-OH en 300 cc de ácido acético glacial y 30 cc de agua se hidrogenaron después de añadir 1 g de carbón activado sobre paladio. Luego se separó el catalizador filtrándolo con succión, se concentró el filtrado en vacío a 45° y el residuo se sometió por dos veces a disolución y evaporación del disolvente con metanol.

20. El residuo así obtenido se recogió seguidamente en una pequeña cantidad de agua, se ajustó la solución así obtenida a pH 7 con ácido clorhídrico 1-n, se filtró la solución neutra así obtenida, se la mezcló con acetona y se la volvió a filtrar,

25. con lo que se obtuvo como precipitado el N<sup>α</sup>-Palm-L-Lys-L-Lys-OH . HCl, que se descompuso a temperaturas por encima de 180°;  $[\alpha]_D^{20} = -4^\circ$  (c = 2 en agua).



EJEMPLO 2.

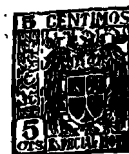
277858

N<sup>α</sup>-Palm-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-NH<sub>2</sub>

5. 20 g de N<sup>α</sup>-Palm-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-OCH<sub>3</sub> en 800 cc de metanol se saturaron con gas amoníaco a 25° y se dejaron reposar a 25° durante 48 horas. Se separó el precipitado filtrándolo con succión, se le lavó con un gran volumen de agua, se le secó en vacío a 60° y se le cristalizó en dimetilformamida/agua, con lo que se obtuvo N<sup>α</sup>-Palm-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-NH<sub>2</sub> de punto de fusión 174-176°;  $[\alpha]_D^{20} = -8,2^\circ$  (c = 2 en dimetilformamida).

N<sup>α</sup>-Palm-L-Lys-L-Lys-NH<sub>2</sub> . 2HCl

15. 17 g de N<sup>α</sup>-Palm-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-NH<sub>2</sub> en 300 cc de ácido acético glacial y 30 cc de agua se hidrogenaron en presencia de 1,7 g de carbón activado sobre paladio. Luego se filtró con succión el catalizador y se concentró el filtrado en vacío a 45°. Después de disolver el residuo en agua por dos veces, seguido de evaporación subsiguiente, el residuo resultante volvió a disolverse en una pequeña cantidad de agua y la solución así obtenida se ajustó a pH 7 con ácido clorhídrico 3-n y la solución neutra se mezcló luego con acetona, con lo que se obtuvo como precipitado el
20. N<sup>α</sup>-Palm-L-Lys-L-Lys-NH<sub>2</sub> . 2HCl, con punto de fusión 232-233° (descomposición);  $[\alpha]_D^{20} = -11^\circ$  (c = 2 en agua).



277858

E J E M P L O 3.N<sup>α</sup>-Palm-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-NHNH<sub>2</sub>

5. 26 g de N<sup>α</sup>-Palm-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-OCH<sub>3</sub> en 400 cc de metanol se trataron con 26 cc de hidrato de hidrazina al 100% y se calentaron en baño de vapor durante 15 minutos. Después de 24 horas de reposo, se mezcló todo ello con 800 cc de agua y se filtró con succión. El precipitado se lavó con una gran cantidad de agua y se secó. Después de cristalización en dimetilformamida/etanol, se obtuvo N<sup>α</sup>-Palm-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-NHNH<sub>2</sub> de punto de fusión 190-191°;  $[\alpha]_D^{20} = -10,8^\circ$  (c = 1 en dimetilformamida).

15. N<sup>α</sup>-Palm-L-Lys-L-Lys-NHNH<sub>2</sub> . 3HBr

- Una solución de 22 g de N<sup>α</sup>-Palm-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Lys-NHNH<sub>2</sub> en 100 cc de ácido acético glacial se agitó durante 1 1/2 horas, excluyendo la humedad, con 110 cc de bromuro de hidrógeno/ácido acético glacial al 33%. El producto de la reacción se cristalizó de la mezcla por adición de 500 cc de éter absoluto, se filtró el precipitado con succión, se le lavó con un gran volumen de éter absoluto y se le recristalizó en etanol/éter, con lo que se obtuvo N<sup>α</sup>-Palm-L-Lys-L-Lys-NHNH<sub>2</sub> . 3HBr que manifestó una rotación óptica de  $[\alpha]_D^{20} = -14,8^\circ$  (c = 1 en agua).



277858

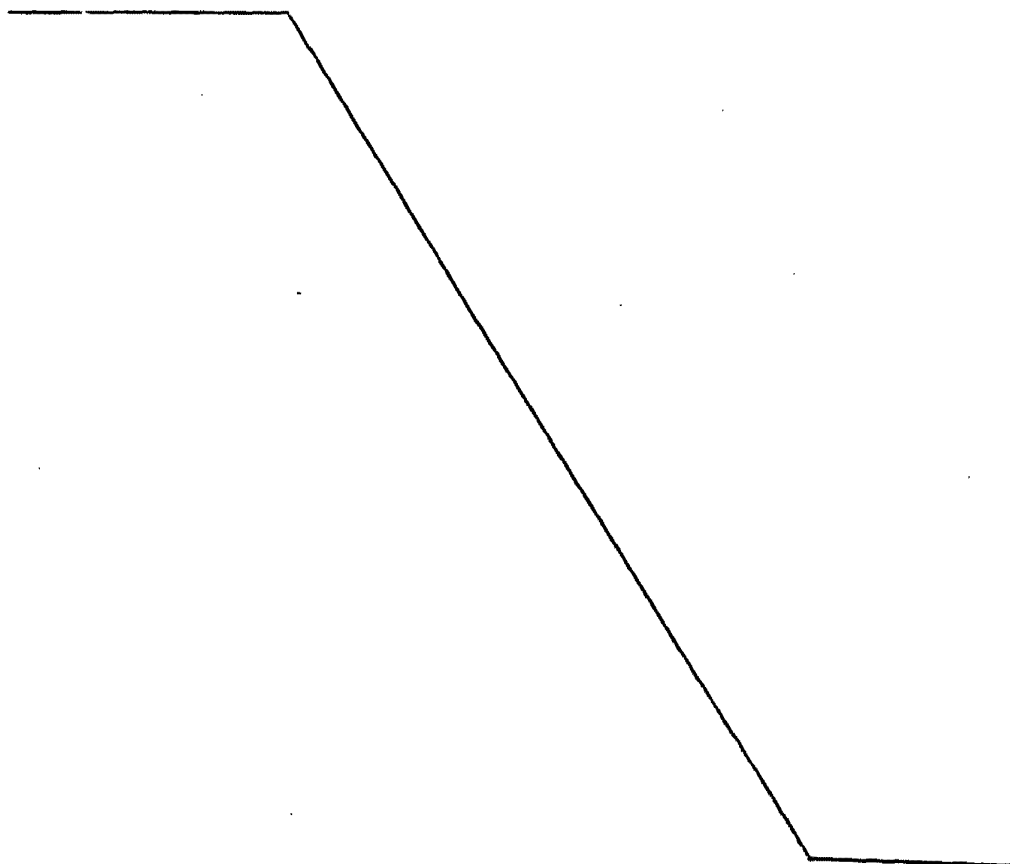
E J E M P L O 4.

Según los procedimientos que se han descrito antes se prepararon los dipéptidos que se exponen en la Tabla que sigue. En esta Tabla se usan las abreviaciones siguientes:

5.

- |    |   |                  |     |   |                  |
|----|---|------------------|-----|---|------------------|
| Me | = | metanol          | P   | = | éter de petróleo |
| Et | = | etanol           | DMF | = | dimetilformamida |
| Aq | = | agua             | F   | = | punto de fusión  |
| Ac | = | acetona          | Aet | = | éter             |
| Et | = | acetato de etilo |     |   |                  |

10.





277858

		F: °C	$[\alpha]_D^{23}$	
5.	a	$N^\alpha$ -Palm-( $N^\epsilon$ -Z)-L-Lys-( $N^\epsilon$ -Z)- L-Lys-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> $N^\alpha$ -Palm-L-Lys-L-Lys- OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> · 2HCl	110-113 (Et/Aq) 242-246 (Et)	-23° (c=3, Aq)
10.	b	$N^\alpha$ -Palm-L-Lys-L-Lys- OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> · 2H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	165 (Ac/aq)	-20° (c=3, Aq)
15.	c	$N^\alpha$ -Palm-( $N^\epsilon$ -Z)-D-Lys-( $N^\epsilon$ -Z)- D-Lys-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> $N^\alpha$ -Palm-D-Lys-D-Lys- OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> · 2HCl	110-113 (Et) 242-246 (Et)	+23° (c=3, Aq)
20.	d	$N^\alpha$ -Palm-( $N^\epsilon$ -Z)-DL-Lys-( $N^\epsilon$ -Z)- DL-Lys-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> $N^\alpha$ -Palm-DL-Lys-DL-Lys- OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> · 2HCl	93-109 (Et) 210-220 (Et)	
25.	e	$N^\alpha$ -estearoil-( $N^\epsilon$ -Z)-L-Lys- ( $N^\epsilon$ -Z)-L-Lys-OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> $N^\alpha$ -estearoil-L-Lys-L-Lys- OC <sub>2</sub> H <sub>5</sub> · 2HCl	105-108 (Et/Aq) 235-240 (Et)	-21° (c=3, Aq)
30.	f	$N^\alpha$ -Palm-( $N^\epsilon$ -Z)-L-Orn-( $N^\epsilon$ -Z)- L-Orn-OCH <sub>3</sub> $N^\alpha$ -Palm-L-Orn-L-Orn- OCH <sub>3</sub> · 2HCl	121-124 (Et) 230-233 (Me/Ac)	-1.9° (c=1, DMF) -12.2° (c=2, Me)

277858



		F: °C	$\alpha_D^{23}$
5.	g $N^\alpha$ -Palm-( $N^\epsilon$ -Z)-L-Orn-L-Nitroarg-OCH <sub>3</sub> $N^\alpha$ -Palm-L-Orn-L-Arg-OCH <sub>3</sub> · 2HCl	135-139 (E) 217-220 (Me/Ac)	-2.5° (c=1, DMF) -5.2° (c=2, Me)
10.	h $N^\alpha$ -lauroil-( $N^\epsilon$ -Z)-L-Lys-( $N^\epsilon$ -Z)-L-Lys-OCH <sub>3</sub> $N^\alpha$ -lauroil-L-Lys-L-Lys-OCH <sub>3</sub> · 2HCl	137-139 (Me/Ac) 212-214 (Me/Ac)	-11.6° (c=2, Me) -20.0° (c=2, Me)
15.	i $N^\alpha$ -Palm-( $N^\gamma$ -Z)-L-Dab-( $N^\gamma$ -Z)-L-Dab-OCH <sub>3</sub> $N^\alpha$ -Palm-( $N^\gamma$ -Z)-L-Dab-( $N^\gamma$ -Z)-L-Dab-NHNH <sub>2</sub> $N^\alpha$ -Palm-L-Dab-L-Dab-NHNH <sub>2</sub> · 2HCl	119-121 (E/P) 183-184 (DMF/Ac) 184 (Me/Et)	-13.8° (c=2, DMF)
20.	k $N^\alpha, N^\epsilon$ -Di-Z-L-Lys-( $N^\epsilon$ -Palm)-L-Lys-OCH <sub>3</sub> H-L-Lys-( $N^\epsilon$ -Palm)-L-Lys-OCH <sub>3</sub> · 2HCl	151-153 (Me/Aq) 170 (Me/Et)	
25.	l $N^\alpha, N^\epsilon$ -Di-Z-L-Lys-( $N^\epsilon$ -Palm)-L-Lys-NHNH <sub>2</sub> H-L-Lys-( $N^\epsilon$ -Palm)-L-Lys-NHNH <sub>2</sub> · HBr	178-180 (Aq) 194-195 (Et/Aet)	



277858

		F: °C	$\frac{[\alpha]_D^{23}}{D}$
5.	m N <sup>ε</sup> -capril-(N <sup>ε</sup> -Z)-L-Lys-(N <sup>ε</sup> -Z)- L-Lys-OCH <sub>3</sub>	130-132 (Me/Aet)	-11.5° (c=2, Me)
	N <sup>α</sup> -capril-L-Lys-L-Lys- OCH <sub>3</sub> · 2HCl	206-211 (Me/Aet)	-19.9° (c=2, Me)
10.	n N <sup>α</sup> -Palm-(N <sup>ε</sup> -Z)-L-Lys-L- Ser-OCH <sub>3</sub>	125-127 (Me)	
	N <sup>α</sup> -Palm-L-Lys-L-Ser- OCH <sub>3</sub> · 2HCl	139 (Aq/Ac)	-8.2° (c=2, Aq)
15.	o N <sup>α</sup> -Palm-(N <sup>ε</sup> -Z)-L-Lys-L-Leu- OCH <sub>3</sub>	86-88 (E)	-13.6° (c=2, DMF)
	N <sup>α</sup> -Palm-L-Lys-L-Leu-OCH <sub>3</sub>	181-185 (Aq)	-33.2° (c=1, Aq)
20.	p N <sup>α</sup> -Palm-(N <sup>ε</sup> -Z)-L-Lys-L-Tyr- OCH <sub>3</sub>	105-108 (E)	-1° (c=2, DMF)
	N <sup>α</sup> -Palm-L-Lys-L-Tyr-OCH <sub>3</sub>	159-161 (Me/E)	-42.6° (c=1, Aq)



277858

EJEMPLO 5. $N^{\alpha}$ -Z-L-Nitroarg-L-Nitroarg- $OC_2H_5$ 

5. 35,3 g de  $N^{\alpha}$ -Z-L-Nitroarg-OH *Z.* *physiol. Chem.*, 224, 40 (1934) se disolvieron en 400 cc de tetrahidrofurano absoluto y, agitando a  $-10^{\circ}$ , se trataron con 16,2 g de carbonil-diimidazol. Después de agitar durante 40 minutos más, se añadió una solución de H-L-Nitroarg- $OC_2H_5$  (preparado a base de unos 0,2 moles del clorhidrato oleoso, con ayuda de trietilamina) en 150 cc de dimetilformamida, y luego se agitó
10. la mezcla durante otras 4 horas a  $0^{\circ}$ . Después de evaporar el disolvente en vacío, se recogió el residuo en ácido clorhídrico 1-n, con lo que se separó un aceite que se trituró varias veces con agua, a consecuencia de lo cual se solidificó finalmente. Después de recrystalizar en etanol/agua, se obtuvo  $N^{\alpha}$ -
15.  $Z$ -L-Nitroarg-L-Nitroarg- $OC_2H_5$ , de punto de fusión  $123-125^{\circ}$ ;  
 $[\alpha]_D^{21} = -7,8^{\circ}$  ( $C = 1,0$  en alcohol).

 $N^{\alpha}$ -Palx-L-Nitroarg-L-Nitroarg- $OC_2H_5$ 

20. 14,6 g de  $N^{\alpha}$ -Z-L-Nitroarg-L-Nitroarg- $OC_2H_5$  se descarbóxilaron por tratamiento durante 1 hora con 50 cc de ácido bromhídrico al 25% en ácido acético glacial. El bromhidrato se precipitó en éter, se lavó varias veces
25. con éter y se sometió dos veces a disolución en etanol, seguido por evaporación subsiguiente en vacío. El residuo se hizo reaccionar en etanol absoluto con exceso de trietilamina y se evaporó en vacío. Luego se recogió el residuo en 150 cc de piridina absoluta, se le añadieron 4 cc
30. de trietilamina y, a temperatura de  $-10$  a  $-15^{\circ}$  y con agi-



277858

tación enérgica, se le instilaron 7,2 g de cloruro de palmitoilo. Se agitó la mezcla a 0° durante 30 minutos más y seguidamente se evaporaron los disolventes en vacío. El residuo se dividió entre acetato de etilo y ácido clorhídrico 3-n, se lavó rápidamente con agua y con solución de cloruro sódico saturada, se secó sobre sulfato sódico y se concentró en vacío, con lo que se obtuvo  $N^{\alpha}$ -Palm-L-Nitroarg-L-Nitroarg- $OC_2H_5$  que funde a 169-173° (a seguido de la recristalización en etanol/éter).

10.  $N^{\alpha}$ -Palm-L-Arg-L-Arg- $OC_2H_5 \cdot 2HCl$

Se disolvió  $N^{\alpha}$ -Palm-L-Nitroarg-L-Nitroarg- $OC_2H_5$  en una cantidad 50 veces mayor de ácido acético glacial y se hidrogenó durante 24 horas a temperatura ambiente, después de adición de 10% de agua y 5% de catalizador de carbón activado sobre paladio. Luego se separó el catalizador por filtración, se concentró el filtrado en vacío y se cristalizó el residuo en metanol, con lo que se obtuvo  $N^{\alpha}$ -Palm-L-Arg-L-Arg- $OC_2H_5 \cdot 2HCl$  que funde a 225-230°;  $[\alpha]_D^{21} = -13,7^{\circ}$  (c = 2 en etanol).

20. EJEMPLO 6.

$N^{\alpha}$ -formil-( $N^{\epsilon}$ -Z)-L-Lys-( $N^{\epsilon}$ -Z)-L-Lys- $OCH_3$

25. 25,3 g de  $N^{\alpha}$ -formil-( $N^{\epsilon}$ -Z)-L-Lys-OH  $\Delta$ . Amer. Chem Soc. 82, 3727 (1960)  $\Delta$  se disolvieron en 150 cc de tetrahidrofurano absoluto y se trataron, agitando y a -10°, con 13,8 g de carbonil-diimidazol. Al cabo de 30 minutos se añadió una solución de H-( $N^{\epsilon}$ -Z)-L-Lys- $OCH_3$  (obtenido de 28 g del clorhidrato por tratamiento con trietilamina) en 50 cc de tetrahidrofurano y



277858

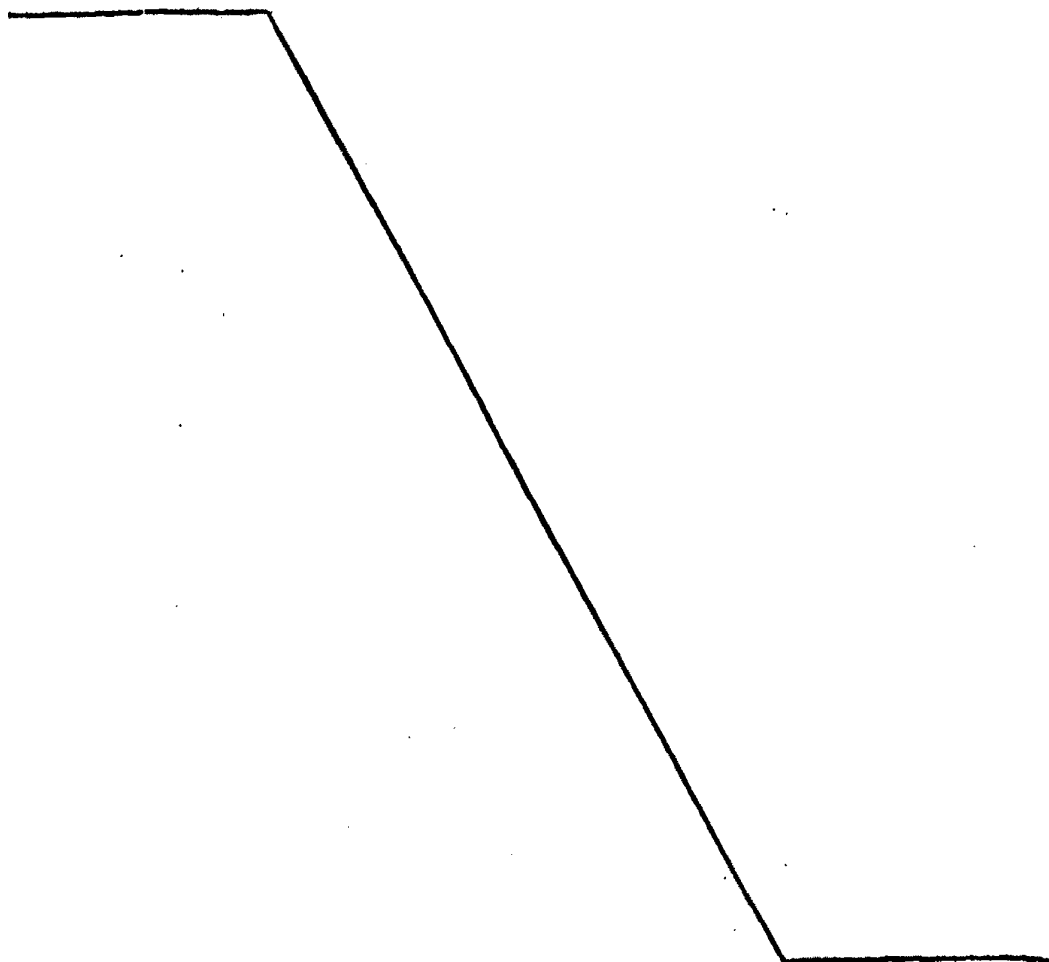
- se agitó la mezcla durante 4 horas a temperatura ambiente. Luego se la concentró en vacío, se la recogió en acetato de etilo y se la lavó con ácido tartárico 1-m enfriado por hielo, con agua helada, con bicarbonato potásico al 10% y con solución saturada de cloruro sódico. En este punto, se añadió tetrahidrofurano suficiente para disolver cualquier precipitado que se presentara. Si no se presenta precipitado, se omite la adición de tetrahidrofurano. A continuación se secó la solución sobre sulfato sódico y se la concentró en vacío. El residuo se cristalizó en acetona/éter y se obtuvo  $N^{\alpha}$ -formil-( $N^{\epsilon}$ -Z)-L-Lys-( $N^{\epsilon}$ -Z)-L-Lys-OCH<sub>3</sub> que funde a 147-149°;  $[\alpha]_D^{22} = 16,9^{\circ}$  (c = 1,0 en metanol).
- 5.
- 10.

Desformilación y reacción con cloruros de ácido graso

- 15.
- 29 g de  $N^{\alpha}$ -formil-( $N^{\epsilon}$ -Z)-L-Lys-( $N^{\epsilon}$ -Z)-L-Lys-OCH<sub>3</sub> se agitaron durante 5 horas con 100 cc de ácido clorhídrico metanólico 2-n y 70 cc de metanol, con lo que se obtuvo una solución límpida que luego se evaporó en vacío. El residuo se trituró varias veces con éter y se sometió por dos veces a disolución y subsiguiente evaporación en vacío. con 100 cc de tolueno cada vez. El residuo se recogió con 300 cc de tetrahidrofurano absoluto y, al mismo tiempo que se le refrigeraba con hielo, se le trató con 10 cc de trietilamina. Luego se filtró y, después de adición, agitando bien, de otros 10 cc de trietilamina, se trató con 50 milimoles de un cloruro de ácido graso superior, de tal modo que la temperatura no rebasara los -10°. A continuación se agitó la mezcla
- 20.
- 25.



- reaccional durante 20 minutos más a 0° y se la concentró en vacío hasta mitad de su volumen original. Luego se dividió el residuo entre acetato de etilo y ácido clorhídrico, se lavó con ácido clorhídrico, con agua y con solución concentrada de cloruro sódico y durante ello, para evitar la formación de un precipitado, se añadió de cuando en cuando algo de metanol o se sometió la mezcla a ligero calentamiento. Seguidamente se secó la solución sobre sulfato sódico y se la concentró en vacío. Por este método se obtuvieron los ésteres dipéptidos acilados en N<sup>α</sup>-que siguen.
5. Las abreviaciones usadas son las mismas que se utilizaron en la Tabla del ejemplo 4.
- 10.



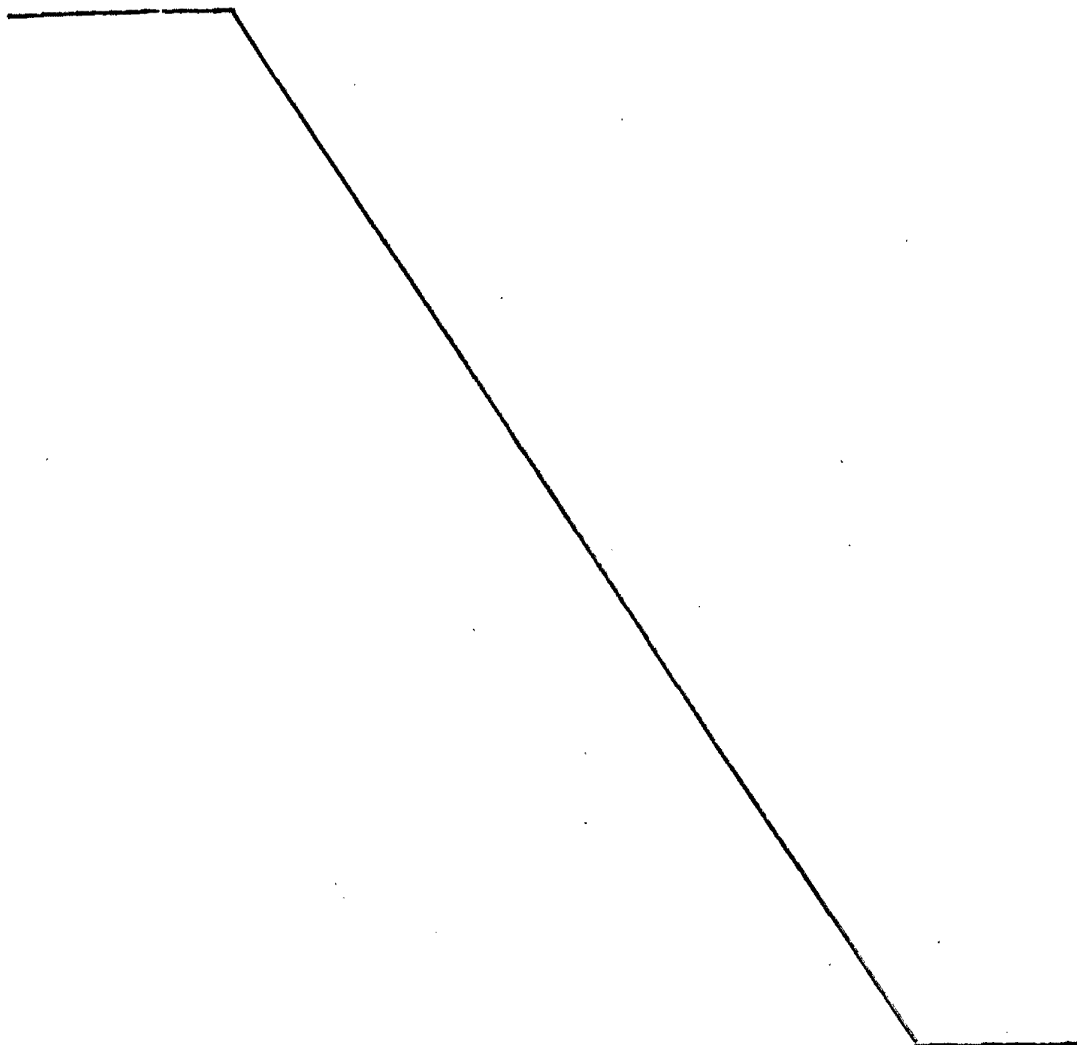
277858



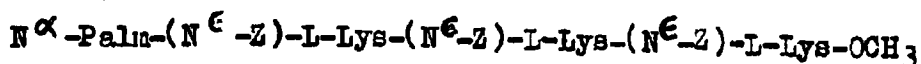
		F: °C	$[\alpha]_D^{23}$
5.	a $N^\alpha$ -tridecanoil-( $N^\epsilon$ -Z)-L-Lys- ( $N^\epsilon$ -Z)-L-Lys-OCH <sub>3</sub> $N^\alpha$ -tridecanoil-L-Lys-L-Lys- OCH <sub>3</sub> · 2HCl	135-137 (Me/Aq) 215-219 (Me/Aet)	-13,7 <sup>2</sup> (c=2, Me) -18,5 <sup>2</sup> (c=2, Me)
10.	b $N^\alpha$ -miristoil-( $N^\epsilon$ -Z)-L-Lys- ( $N^\epsilon$ -Z)-L-Lys-OCH <sub>3</sub> $N^\alpha$ -miristoil-L-Lys-L-Lys- OCH <sub>3</sub> · 2HCl	128-132 (E/P) 214-240 (Me/Aet)	-11,1 <sup>2</sup> (c=2, Me) -19,1 <sup>2</sup> (c=2, Me)
15.	c $N^\alpha$ -pentadecanoil-( $N^\epsilon$ -Z)-L- -Lys-( $N^\epsilon$ -Z)-L-Lys-OCH <sub>3</sub> $N^\alpha$ -pentadecanoil-L-Lys-L- -Lys- OCH <sub>3</sub> · 2HCl	129-130 (Me/Aq) 209-215 (Me/Aet)	-11,7 <sup>2</sup> (c=2, Me) -19,4 <sup>2</sup> (c=2, Me)
20.	d $N^\alpha$ -margaroil-( $N^\epsilon$ -Z)-L-Lys- ( $N^\epsilon$ -Z)-L-Lys-OCH <sub>3</sub> $N^\alpha$ -margaroil-L-Lys-L-Lys- OCH <sub>3</sub> · 2HCl	130-132 (Me/Aq) 216-220 (Me/Aet)	-11,8 <sup>2</sup> (c=2, Me) -16,5 <sup>2</sup> (c=2, Me)
25.	e $N^\alpha$ -araidoil-( $N^\epsilon$ -Z)-L-Lys- ( $N^\epsilon$ -Z)-L-Lys-OCH <sub>3</sub> $N^\alpha$ -araidoil-L-Lys-L-Lys- OCH <sub>3</sub> · 2HCl	120-123 (E/P) 220-225 (Me)	-16,5 <sup>2</sup> (c=2, Me)



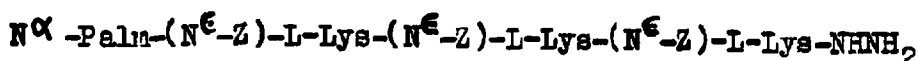
		F: °C	$[\alpha]_D^{23}$
5.	$N^\alpha$ -fitanoil-(N $\epsilon$ -Z)-L-Lys- (N $\epsilon$ -Z)-L-Lys-OCH <sub>3</sub>	115-118 (E/P)	-12,9 <sup>g</sup> (c=2, Me)
	$N^\alpha$ -fitanoil-L-Lys-L-Lys- OCH <sub>3</sub> · 2HCl	215-219 (Me/Aet)	-19,5 <sup>g</sup> (c=2, Me)



277858

EJEMPLO 7.

5. Este producto se preparó a partir de  $N^{\alpha}\text{-Palm-(N}^{\epsilon}\text{-Z)-L-Lys-(N}^{\epsilon}\text{-Z)-L-Lys-OH}$  y  $H\text{-(N}^{\epsilon}\text{-Z)-L-Lys-OCH}_3$  con dicitclohexilcarbodiimida. Después de cristalización en acetato de etilo/éter, fundió a 148-150°.



10. Este producto se preparó a partir de  $N^{\alpha}\text{-Palm-(N}^{\epsilon}\text{-Z)-L-Lys-(N}^{\epsilon}\text{-Z)-L-Lys-(N}^{\epsilon}\text{-Z)-L-Lys-OCH}_3$  empleando hidrato de hidrazina como en el método expuesto en el ejemplo 3. Después de cristalización en dimetilformamida/etanol, fundió a 192-194°;  $[\alpha]_D^{20} = -9,0^{\circ}$  (c = 1 en dimetilformamida).



20. Este producto se preparó a partir de  $N^{\alpha}\text{-Palm-(N}^{\epsilon}\text{-Z)-L-Lys-(N}^{\epsilon}\text{-Z)-L-Lys-(N}^{\epsilon}\text{-Z)-L-Lys-NHNH}_2$  empleando bromuro de hidrógeno/ácido acético glacial;  $[\alpha]_D^{20} = -18,5^{\circ}$  (c = 1 en  $H_2O$ ).

EJEMPLO 8.

25. Este producto se preparó a partir de  $H\text{-(N}^{\gamma}\text{-Palm)-L-Dab-OCH}_3$  .  $HEl$  y  $N^{\gamma}\text{-formil-(N}^{\gamma}\text{-Z)-D-Dab-OH}$  empleando dicitclohexilcarbodiimida en dimetilformamida, de acuerdo



con el método expuesto en el ejemplo 1 anterior. Después de cristalización en acetato de etilo, fundió a 164-166°.

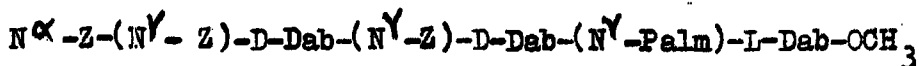


5. Este producto se preparó a partir del éster antes mencionado, empleando hidrato de hidrazina según el método del ejemplo 3. Después de cristalización en metanol, fundió a 204-206°.



- 10 g de N<sup>α</sup>-formil-(N<sup>γ</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>γ</sup>-Palm)-L-Dab-NHNH<sub>2</sub> se cubrieron con 120 cc de bromuro de hidrógeno al 33%/ácido acético glacial y se agitaron durante 2 horas con exclusión de la humedad. La emulsión así formada se trató con 500 cc de éter absoluto, y el producto precipitado se dejó reposar durante 2 horas en 50 cc de agua a 20°, para efectuar la desformilación. Luego se aisló el producto final por liofilización y se le recrystalizó en metanol/acetato de etilo. Fundió a 215-218° (descomposición).

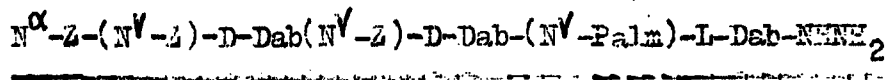
20. EJEMPLO 9.



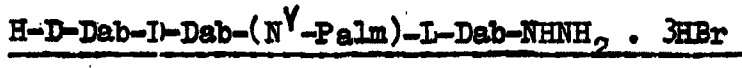
25. 8,4 g de H-(N<sup>γ</sup>-Palm)-L-Dab-OCH<sub>3</sub> · HCl se disolvieron en 80 cc de dimetilformamida y se agitaron energicamente durante 15 minutos con 3,2 cc de trietilamina. Luego se filtró la mezcla per succión y se disolvieron



5. en el filtrado 13 g de  $N^\alpha$ -Z-( $N^V$ -Z)-D-Dab-( $N^V$ -Z)-D-Dab-OH .  
 La mezcla así formada se trató a  $0^\circ$  con 4,3 g de dicitclohexilcarbodiimida. Al cabo de 24 horas, se separó, filtrando por succión, la dicitclohexilurea que se había formado y se trató el filtrado con 20 g de cloruro sódico en 1 litro de ácido clorhídrico 0,1-n. Luego se filtró por succión la mezcla resultante, se mezcló el precipitado con dimetilformamida y con amoniaco 0,1-n y se reprecipitó por adición de cloruro sódico. El precipitado se secó en vacío a  $70^\circ$  y se cristalizó en metanol, con lo que se obtuvo  $N^\alpha$ -Z-( $N^V$ -Z)-D-Dab-( $N^V$ -Z)-D-Dab-( $N^V$ -Palm)-L-Dab-OCH<sub>3</sub> que funde a  $178-180^\circ$ .



15. 14 g de  $N^\alpha$ -Z-( $N^V$ -Z)-D-Dab-( $N^V$ -Z)-D-Dab-( $N^V$ -Palm)-L-Dab-OCH<sub>3</sub> se disolvieron en 100 cc de dimetilformamida y 14 cc de hidrato de hidrazina al 100%, con calentamiento, y luego se dejó reposar todo ello durante 24 horas a  $20^\circ$ . A continuación se trituró con 200 cc de etanol, se filtró por succión y el precipitado se lavó con etanol y se secó, con lo que se obtuvo  $N^\alpha$ -Z-( $N^V$ -Z)-D-Dab-( $N^V$ -Z)-D-Dab-( $N^V$ -Palm)-L-Dab-NHNH<sub>2</sub> que funde a  $222-224^\circ$ .



25. 10 g de  $N^\alpha$ -Z-( $N^V$ -Z)-D-Dab-( $N^V$ -Z)-D-Dab-( $N^V$ -Palm)-L-Dab-NHNH<sub>2</sub> se cubrieron con 75 cc de bromuro de hidrógeno al 33%/ácido acético glacial y se agitaron durante 2 horas con exclusión de la humedad. Luego se mezcló la suspensión con 300 cc de éter absoluto, se separaron por decantación las aguas madres sobrenadantes y se lavó el residuo varias veces con



éter absoluto fresco. Luego se recristalizó en metanol/éter, con lo que se obtuvo H-D-Dab-D-Dab-(N<sup>Y</sup>-Palm)-L-Dab-NHNH<sub>2</sub>. 3HBr que manifestó una rotación de  $[\alpha]_D^{20} = -7,8^{\circ}$  (c=1 en agua).

5. EJEMPLO 10.

N<sup>α</sup>-formil-(N<sup>Y</sup>-Z)-L-Dab-(N<sup>Y</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>Y</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>Y</sup>-Palm)-L-Dab-OCH<sub>3</sub>

10. 9,1 g de N<sup>α</sup>-formil-(N<sup>Y</sup>-Z)-L-Dab-(N<sup>Y</sup>-Z)-D-Dab-NHNH<sub>2</sub> se disolvieron con agitación energética y a 0° en 100 cc de ácido acético glacial, 50 cc de agua, 100 cc de acetato de etilo y 12,7 cc de ácido clorhídrico 3-n. Luego se añadió despacio, gota a gota y a -10°, una solución de 1,32 g de nitrito sódico en 15 cc de agua. Después de 15 minutos, se extrajo la mezcla con acetato de etilo
15. a 0°, se lavó con agua y bicarbonato sódico 1-n y se secó la solución a 0° sobre sulfato sódico. La solución azida así obtenida se trató seguidamente con una solución de 11 g de H-(N<sup>Y</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>Y</sup>-Palm)-L-Dab-OCH<sub>3</sub> en 65 cc de dimetilformamida y la mezcla resultante
20. se dejó reposar a 0° durante 20 horas y luego a 20° durante 6 horas; a continuación se la concentró en vacío y se la mezcló con 400 cc de éter, con lo que se obtuvo como precipitado N<sup>α</sup>-formil-(N<sup>Y</sup>-Z)-L-Dab-(N<sup>Y</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>Y</sup>-Z)-L-Dab-(N<sup>Y</sup>-Palm)-L-Dab-OCH<sub>3</sub> que, después de separado filtrando por succión, se lavó con éter y se secó en vacío a 60°; punto de fusión, 222-224°.
- 25.



N<sup>α</sup>-formil-(N<sup>γ</sup>-Z)-L-Dab-(N<sup>γ</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>γ</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>γ</sup>-Palm)-L-Dab-NHNH<sub>2</sub>

5. 14 g de N<sup>α</sup>-formil-(N<sup>γ</sup>-Z)-L-Dab-(N<sup>γ</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>γ</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>γ</sup>-Palm)-L-Dab-OCH<sub>3</sub> se disolvieron en 90 cc de dimetilformamida y 11 cc de hidrato de hidrazina al 100%, con calentamiento. Al cabo de 20 horas se mezcló la solución con 200 cc de agua, se filtró por succión y el precipitado se lavó con agua y se secó en vacío a 80<sup>o</sup>, con lo que se obtuvo N<sup>α</sup>-formil-(N<sup>γ</sup>-Z)-L-Dab-(N<sup>γ</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>γ</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>γ</sup>-Palm)-L-Dab-NHNH<sub>2</sub> que funde a 240-242<sup>o</sup>.
- 10.

H-L-Dab-D-Dab-D-Dab-(N<sup>γ</sup>-Palm)-L-Dab-NHNH<sub>2</sub> . 4HBr

15. 8 g de N<sup>α</sup>-formil-(N<sup>γ</sup>-Z)-L-Dab-(N<sup>γ</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>γ</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>γ</sup>-Palm)-L-Dab-NHNH<sub>2</sub> se cubrieron con 80 cc de bromuro de hidrógeno al 33%/ácido acético glacial y se agitaron durante 2 horas con exclusión de agua. La suspensión resultante se mezcló con 300 cc de éter absoluto y las aguas madres sobrenadantes se separaron filtrando por succión. El residuo se trató varias veces con éter fresco y luego se recogió en 80 cc de agua.
20. El éter restante se eliminó por evacuación, y luego se dejó la mezcla en reposo durante 2 horas a 20<sup>o</sup>. A continuación se liofilizó la solución acuosa y se recristalizó el residuo en metanol/éter. Luego se le disolvió en metanol, se le neutralizó a pH 7 con piridina y se precipitó la solución en alcohol. Después de secar, se disolvió el precipitado en 50 cc de agua y se le liofilicó, con lo que se obtuvo el tetrabromhidrato mencionado arriba, en forma de un polvo incoloro que funde a 245-250<sup>o</sup> (descomposición).
- 25.

277856

EJEMPLO 11. $N^\alpha$ -(10-Undecenoil)-L-Lys-L-Lys-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> . 2HCl

- 28 g de H-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> . HCl se disolvieron en 150 cc de dimetilformamida mediante calentamiento ligero. Después de enfriar, se trataron con 12 cc de trietilamina y filtrando por succión se separaron del clorhidrato de trietilamina. Luego se añadieron al filtrado 35 g de N<sup>α</sup>-(10-undecenoil)-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-OH que se disolvieron por ligero calentamiento. A continuación se enfrió la mezcla reaccional a temperatura de 0 a -5° y se le añadieron 17,5 g de dicitclohecilcarbodiimida en 80 cc de dimetilformamida. La mezcla resultante se colocó en un refrigerador. Al cabo de 24 horas, se separó por filtración la urea formada, se mezcló la solución con agua helada, se disolvió en acetato de etilo el dipéptido protegido precipitado y se le lavó con bicarbonato sódico 1-n, con ácido clorhídrico 0,1-n y con agua. Después de evaporación, se recristalizó el residuo en etanol/agua, con lo que se obtuvo N<sup>α</sup>-(10-undecenoil)-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> que funde a 130-132°
- $[\alpha]_D^{21} = -7,4^\circ$  (c = 2,54 en etanol).

- Para desdoblar los grupos protectores, 7,3 g del dipéptido antes descrito se calentaron en reflujo durante 1 hora en 100 cc de etanol y 3 cc de agua, con adición de 1 g de hidrato de hidrazina. Al cabo de algún tiempo de reposo a temperatura ambiente, se trató con 2 cc de ácido clorhídrico concentrado, se sacudió perfectamente y se filtró por succión para separar la hidrazina



de ftaloilo que se había formado. La concentración de las aguas madres etanólicas y la filtración dieron por resultado la separación de más hidrazida de ftaloilo todavía. Luego se concentró el filtrado y se le precipitó con acetona y éter de petróleo, con lo que se obtuvo  $N^{\alpha}$ -(10-undecenoil)-L-Lys-L-Lys- $OC_2H_5 \cdot 2HCl$ , que, después de recristalizado por dos veces en etanol, fundió a  $241-243^{\circ}$ ;

$$[\alpha]_D^{22} = -31^{\circ} \pm 2^{\circ} \quad (c = 1,6 \text{ en agua}).$$

10. EJEMPLO 12.

$N^{\alpha}, N^{\gamma}$ -Di-Z-L-Lys-(N-Z)-L-Lys-cetilamida

Una solución de 35,4 g de  $N^{\alpha}, N^{\gamma}$ -Di-Z-L-Lys-(N-Z)-L-Lys-OH (J. Chem. Soc. 1953, 475) en 150 cc de tetrahydrofurano se trató, a  $2^{\circ}$  y agitando, con 8,6 g de carbonil-diimidazol. Al cabo de 30 minutos se añadieron 12,7 g de cetilamina y se dejó la mezcla en reposo durante la noche a temperatura ambiente. A continuación se separó la sustancia precipitada filtrando por succión y se la lavó, con lo que se obtuvieron 19,8 g de producto. El filtrado, a su vez, se concentró en vacío, se recogió en acetato de etilo, se lavó y se secó. Después de evaporación y de reorristalización en cloroformo/éter de petróleo, proporcionó 5,2 g más de producto. En total se obtuvieron 25,0 g de  $N^{\alpha}, N^{\gamma}$ -Di-Z-L-Lys-(N-Z)-L-Lys-cetilamida que funde a  $147-152^{\circ}$ ;  $[\alpha]_D^{21} = -6,3^{\circ}$  (c = 2,0 en dimetilformamida).

H-L-Lys-L-Lys-cetilemida . 3HCl

28 g de  $N^{\alpha}, N^{\gamma}$ -Di-Z-L-Lys-(N-Z)-L-Lys-cetilamida se descartobenzoxilaron por tratamiento con 50 cc de bromuro

277858



- de hidrógeno al 33% en ácido acético glacial, durante 2 horas. Después de precipitación con éter y destilación con 50 cc de metanol, se disolvió el residuo en un mínimo de agua y se le añadió a 80 g de AMBERLITE IRA 410. Seguidamente se eluyó con agua, se filtró por medio de carbón tratado con 30 cc de ácido clorhídrico 3-n y se concentró hasta 40 cc a temperatura de 50° y presión de 60 mm de Hg. Después de precipitación con acetona, se filtró por succión, se secó sobre pentóxido de fósforo, se recogió en etanol caliente, se filtró por medio de carbón y se precipitó por adición lenta de acetona, con lo que se obtuvieron 6,3 g de H-L-Lys-L-Lys-cetilamida . 3HCl que funde a 230-250° (descomposición);  $[\alpha]_D^{22} = + 6,6^{\circ}$  (c = 2,0 en metanol).

EJEMPLO 13.

15.  $N^{\alpha}$ -Z-(N $^{\epsilon}$ -ftaloil)-L-Lys-(N $^{\epsilon}$ -ftaloil)-L-Lys-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>

- 10,5 g (31 milimoles) de N $^{\epsilon}$ -ftaloil-L-Lys-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> . HCl se disolvieron en 70 cc de dimetilformamida, se trataron con 4,4 cc de trietilamina y se filtraron. El filtrado se añadió de golpe a una solución de 12,6 g (31 milimoles) de N $^{\alpha}$ -Z-(N $^{\epsilon}$ -ftaloil)-L-Lys-OH en 150 cc de tetrahidrofureno absoluto y luego se añadieron a la mezcla 6,4 g (31 milimoles) de diciclohexilcarbodiimida. Después de dejar en reposo durante 16 horas a temperatura de 2-4°, se separó por filtración la diciclohexilurea formada y se evaporó en vacío el filtrado. El residuo se recogió en acetato de etilo y ácido clorhídrico 1-n, se filtró para eliminar la urea restante, se lavó con ácido clorhídrico 1-n, con agua, con bicarbonato sódico al 10% y con solución saturada de cloruro sódico, se secó sobre sulfato sódico y se evaporó en vacío, con lo que se obtuvo N $^{\alpha}$ -Z-(N $^{\epsilon}$ -ftaloil)-L-Lys-(N $^{\epsilon}$ -ftaloil)-L-Lys-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> que, después de recristalización

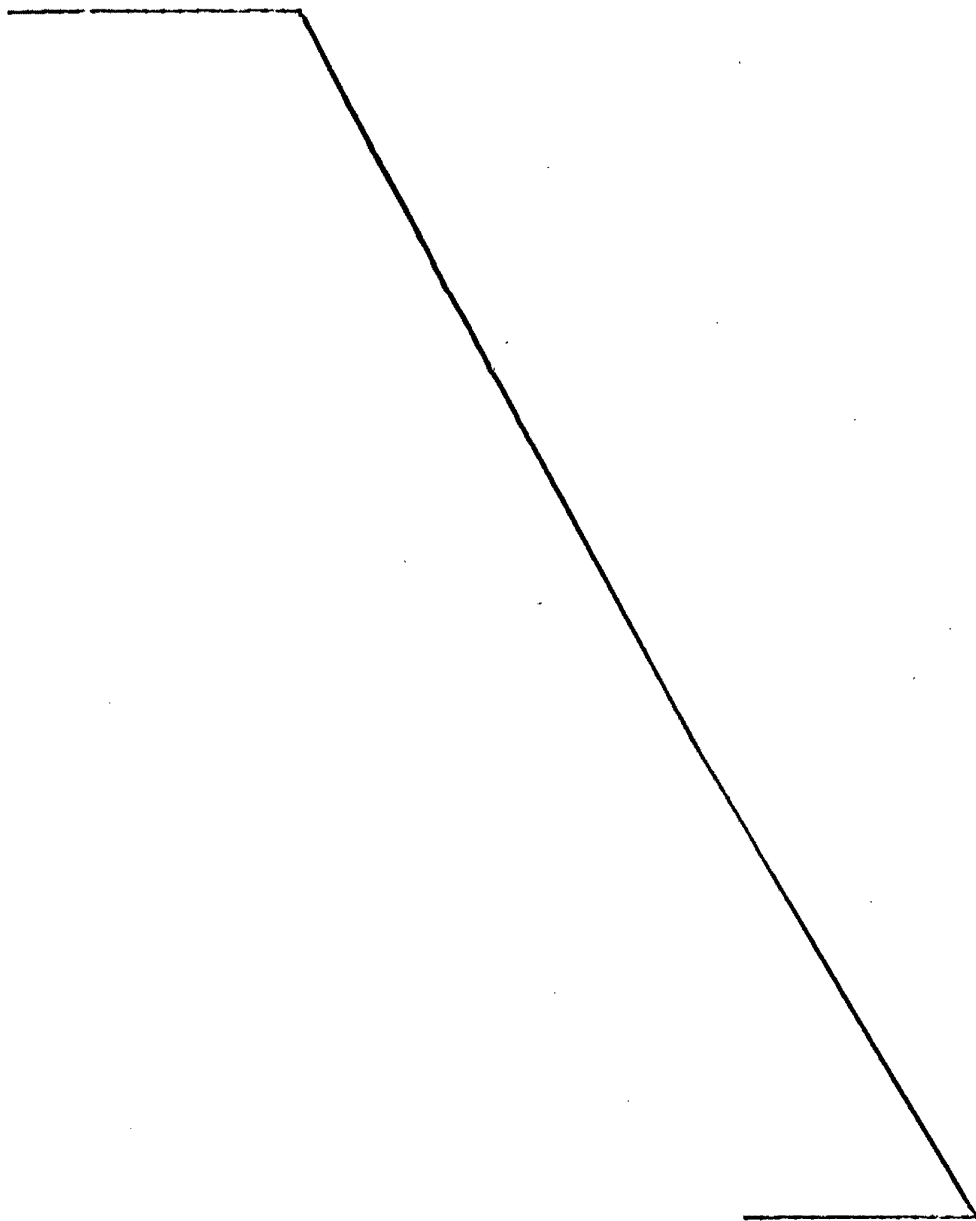
= 39 =

277858



en acetato de etilo/éter de petróleo, fundió a 116-121°;

$[\alpha]_D^{21} = -11,8^{\circ}$  (c = 0,5 en etanol).





H-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> · HBr

Del éster dipéptido protegido que se ha descrito antes se disgregó el grupo N<sup>α</sup>-carboboixi por tratamiento con bromuro de hidrógeno/ácido acético glacial, según el método expuesto antes, y se obtuvo H-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> · HBr, que, después de recristalización en cloroformo y un poco de etanol/éter, fundió a 230-235°.

N<sup>α</sup>-Oleoil-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>

10. 12,9 g (20 milimoles) del bromhidrato obtenido antes se liberaron en 35 cc de cloroformo con 3 cc de trietilamina y luego se trataron con 100 cc de tetrahidrofurano a -20°, se filtraron y se trataron con otros 3 cc de trietilamina. A continuación, agitando bien, bajo atmósfera de nitrógeno y a temperatura de -30°, se añadieron gota a gota 5,6 g (18,6 milimoles) de cloruro de oleilo y la mezcla resultante se agitó durante 1/2 hora más a 0° y luego se evaporó en vacío. El residuo se recogió en acetato de etilo/ácido clorhídrico 1-n caliente, se separó en un embudo separador previamente calentado, se lavó rápidamente con agua caliente y solución concentrada de cloruro sódico, se secó y se concentró en vacío. Luego se cristalizó el residuo en acetato de etilo/éter de petróleo y en etanol/agua, con lo que se obtuvieron 12 g
15. de N<sup>α</sup>-oleoil-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, que funde a 118-125°;  $\alpha_D^{25} = -9,7^\circ$  (1,0 en etanol).
20. 25.

N<sup>α</sup>-Oleoil-L-Lys-L-Lys-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> · HCl

30. Para disgregar los grupos protectores de ftaloilo, 9,7 g

277858



- (11,7 milimoles) del producto obtenido antes se disolvieron en 100 cc de etanol y, después de la adición bajo atmósfera de nitrógeno de 3,5 cc de hidrato de hidrazina 6,72-n, se calentaron en reflujo durante 1 hora. Después del enfriamiento, se trató con 8,0 cc de cloruro de hidrógeno 3,2-n en etanol, se mantuvo a temperatura ambiente durante la noche y se filtró por succión para eliminar la hidrazida de ftaloilo. El filtrado se concentró en vacío y, después de otra filtración de la hidrazida de ftaloilo, se recristalizó por dos veces en etanol/éter, con lo que se obtuvieron 3,3 g de  $N^{\alpha}$ -oleoil-L-Lys-L-Lys- $OC_2H_5 \cdot 2HCl$ , que se descompuso por encima de  $230^{\circ}$  sin fusión;  $[\alpha]_D^{23} = -17,7^{\circ}$  ( $c = 1,0$  en etanol).

Los materiales de partida empleados en los ejemplos que preceden se prepararon de la manera siguiente:

15.

$N^{\alpha}$ -Palm-( $N^{\delta}$ -Z)-L-Orn-OH (véase el Ejemplo 4f)

- Una solución de 26,6 g (0,1 mol) de  $N^{\delta}$ -Z-L-Orn-OH Biochem. J. 46, 582 (1950) en 150 cc de hidróxido potásico 1,5-n y 100 cc de tetrahidrofurano se trató gota a gota, a temperatura de  $2$  a  $5^{\circ}$ , con 30 g (0,11 moles) de cloruro de palmitoilo. Después de la adición, se agitó la mezcla durante 40 minutos más, con adición ocasional de hidróxido potásico 2-n para mantener alcalino el medio. A continuación se acidificó (a rojo congo) con ácido clorhídrico y se evaporó en vacío el tetrahidrofurano. Se añadieron al residuo 500 cc de acetato de etilo y una pequeña cantidad de ácido clorhídrico concentrado. Se separó la fase acuosa resultante y el resto, con la adición de una pequeña cantidad de metanol, se lavó con ácido clorhídrico 4-n, con agua y con solución concentrada de cloruro sódico, se secó sobre sulfato sódico y se concentró en vacío. La recristalización del

20.

25.

30.

= 42 = 277358



residuo en metanol/agua (10:1) proporcionó N<sup>α</sup>-Palm-(N<sup>ε</sup>-Z)-L-Orn-OH, que funde a 91-96°;  $[\alpha]_D^{20} +4,8^\circ$  (c = 1,0 en etanol).

El procedimiento que se ha descrito se usó para preparar los ácidos N<sup>ω</sup>-Z-amino acilados en N<sup>α</sup> que se reseñan en la tabla siguiente:

10.

	Véase el Ejemplo	Punto de fusión	Cristalización en
	1 N <sup>α</sup> -Palm-(N <sup>ε</sup> -Z)-L-Lys-OH	101-102°	(Cloruro de hidrógeno/agua)
	4c N <sup>α</sup> -Palm-(N <sup>ε</sup> -Z)-D-Lys-OH	101-102°	(Cloruro de hidrógeno/agua)
15.	4d N <sup>α</sup> -Palm-(N <sup>ε</sup> -Z)-DL-Lys-OH	134-135°	(Acetato de etilo/éter de petróleo)
	4e N <sup>α</sup> -estearoil-(N <sup>ε</sup> -Z)-L-Lys-OH	95-97°	(Acetato de etilo/éter de petróleo)
	4h N <sup>α</sup> -lauroil-(N <sup>ε</sup> -Z)-L-Lys-OH	102-104°	(Eter/éter de petróleo)
20.	4i N <sup>α</sup> -Palm-(N <sup>γ</sup> -Z)-L-Dab-OH	94-96°	(Metanol/agua)
	4m N <sup>α</sup> -capril-(N <sup>ε</sup> -Z)-L-Lys-OH	102-106°	(Acetato de etilo/éter de petróleo)

25.

Los ésteres aminoácidos se prepararon según el procedimiento corriente de Curtius y Goebel, J. prakt. Chemie 27 37, 150 (1888), con alcohol/cloruro de hidrógeno, o por medio de alcohol y cloruro de tionilo según el procedimiento de Brenner y Huber, Helv. Chimica Acta 36, 1109 (1953).

30.



H-(N<sup>ε</sup>-Palm)-L-Lys-OCH<sub>3</sub> (véase el Ejemplo 4k)

24 g de H-L-Lys-OH . HCl se disolvieron en 1500 cc de agua y se calentaron en reflujo durante 2 horas con 40 g de carbonato de cobre básico. Luego se filtró y se trató a 0° con 40 g de cloruro de palmitoilo e hidróxido sódico 2-n suficiente para mantener básica la mezcla reaccional. Al cabo de 2 horas, se separó por filtración el complejo cúprico precipitado, se lavó con agua, con acetona y con éter y se secó. Seguidamente se suspendió el polvo en 500 cc de metanol y 50 cc de agua, se acidificó con ácido clorhídrico concentrado y se trató, durante 1/2 hora y a 60°, con sulfuro de hidrógeno. Luego se separó por filtración el sulfuro de cobre y se ajustó el filtrado a pH 7 con hidróxido sódico. Después de 4 horas de reposo a temperatura ambiente, se filtró la mezcla y se cristalizó el residuo en ácido acético glacial/éter, con lo que se obtuvo H-(N<sup>ε</sup>-Palm)-L-Lys-OH, que funde a 240°.

30 cc de metanol anhidro se trataron, a -10°, con 2,7 cc de cloruro de tionilo. Luego se añadieron a la mezcla 14 g de H-(N<sup>ε</sup>-Palm)-L-Lys-OH. Al cabo de 3 horas se evaporó en vacío y a 45° la solución límpida, y el residuo se disolvió en metanol y se cristalizó por adición de éter. Los cristales se separaron filtrando por succión, se lavaron con éter y se secaron, con lo que se obtuvo H-(N<sup>ε</sup>-Palm)-L-Lys-OCH<sub>3</sub> . HCl que funde a 142-143°.

H-(N<sup>γ</sup>-Palm)-L-Dab-OCH<sub>3</sub> (véase el Ejemplo 8)

41 g de H-L-Dab-OH . HCl y 35 g de carbonato de cobre básico en 300 cc de agua se calentaron en reflujo durante



- 2 1/2 horas, con agitación. Después de filtrar por succión, se trató el filtrado con 60 g de bicarbonato sódico y, agitando a 20°, se trató gota a gota con una solución de 73 g de cloruro de palmitoilo en 200 cc de acetona. Luego se agitó la mezcla durante 16 horas a 20°, se separó el complejo cúprico filtrándolo por succión, se lavó con una gran cantidad de agua y acetona, se disolvió en 200 cc de agua y 500 cc de metanol, con adición de ácido clorhídrico concentrado, y se trató con sulfuro de hidrógeno hasta que ya no se separó más sulfuro de cobre. Luego se separó el sulfuro de cobre por filtración, se lavó con metanol, se concentró el filtrado en vacío y a 30° hasta un volumen de 300 cc, se le ajustó con trietilamina a un pH de 7 y al mismo tiempo se le diluyó con 500 cc de metanol. Al cabo de 5 horas, se separó el producto filtrando por succión, se le lavó con metanol y se le secó, con lo que se obtuvo H-(N<sup>γ</sup>-Palm)-L-Dab-OH, que funde a 208-210 (descomposición).

- 80 cc de metanol y 7,3 cc de cloruro de tionilo se mezclaron a -10°, se trataron con 36 g de H-(N<sup>γ</sup>-Palm)-L-Dab-OH y se calentaron en reflujo a 50°, durante 6 horas y con exclusión de la humedad. Luego se concentró en vacío y a 50° la solución y se recristalizó en metanol/éter, con lo que se obtuvo H-(N<sup>γ</sup>-Palm)-L-Dab-OCH<sub>3</sub> · HCl, que funde a 144-146°.

25. N<sup>α</sup>-formil-(N<sup>γ</sup>-Z)-D-Dab-OH (véase el Ejemplo 8)  
Véase Helv. Chim. Acta 43, 279 (1959)

N<sup>α</sup>-Z-(N<sup>γ</sup>-Z)-D-Dab-OH (véase el Ejemplo 9)

30. Véase Chem. Listy 47, 427 (1953)

277858



$N^{\alpha}$ -Z-(N<sup>β</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>γ</sup>-Z)-D-Dab-OCH<sub>3</sub> (véase el Ejemplo 9)

5. A partir de H-(N<sup>β</sup>-Z)-D-Dab-OCH<sub>3</sub> y  $N^{\alpha}$ -Z-(N<sup>γ</sup>-Z)-D-Dab-OH, empleando carbodiimida según el procedimiento del Ejemplo 1, se obtuvo  $N^{\alpha}$ -Z-(N<sup>β</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>γ</sup>-Z)-D-Dab-OCH<sub>3</sub>, que funde a 122-124°. El ácido dipéptido correspondiente se obtuvo por saponificación empleando la cantidad calculada de álcali. Dicho ácido fundió a 163-165°.

10.  $N^{\alpha}$ -Formyl-(N<sup>β</sup>-Z)-L-Dab-(N<sup>γ</sup>-Z)-D-Dab-OCH<sub>3</sub> (véase el Ejemplo 10)

Este producto se preparó a partir de los componentes de acuerdo con el procedimiento del Ejemplo 1; punto de fusión, 138-141°.

15.  $N^{\alpha}$ -Formyl-(N<sup>β</sup>-Z)-L-Dab-(N<sup>γ</sup>-Z)-D-Dab-NHNH<sub>2</sub> (véase el Ejemplo 10)

20. Este producto se preparó a partir del éster correspondiente, empleando hidrato de hidrazina de acuerdo con el procedimiento expuesto en el Ejemplo 3; punto de fusión, 196-200°.

H-(N<sup>β</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>γ</sup>-Palm)-L-Dab-OCH<sub>3</sub> (véase el Ejemplo 10)

25. Este producto se preparó a partir de  $N^{\alpha}$ -Formyl-(N<sup>β</sup>-Z)-D-Dab-(N<sup>γ</sup>-Palm)-L-Dab-OCH<sub>3</sub> y ácido clorhídrico metanólico a temperatura ambiente.



277358

H-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-OCH<sub>2</sub> . HCl (véase el Ejemplo 11)

72 g de H-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-OH (Rec. Trav. Chim. Pays Bas 79, 688 [1960]) se cubrieron con 1500 cc de cloruro de hidrógeno/etanol y se hirvieron en reflujo a 60°, durante 72 horas, con exclusión de la humedad. Luego se concentró y se precipitó con éter. El precipitado se re-  
5. cristalizó de etanol/éter, con lo que se obtuvo el clorhidrato de H-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, que funde a 175-177°,  $[\alpha]_D^{22} = +12,3^{\circ}$  (c = 2 en agua).

10.

N<sup>α</sup>-(10-undecenoil)-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-OH (véase el Ejemplo 11)

Para la preparación de N<sup>α</sup>-(10-undecenoil)-  
15. -(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-OH, se disolvieron en 30 cc de dimetilformamida 3,3 g del clorhidrato de éster correspondiente, se añadieron 1,5 cc de trietilamina y se filtró la mezcla por succión para eximirla del clorhidrato de trietilamina así formado. Luego se añadieron 1,9 g de ácido  
20. 10-undecénico y la mezcla resultante se enfrió completamente y se trató con una solución de 2,2 g de dicitclohexilcarbodiimida y 10 cc de dimetilformamida. Al cabo de 20 horas, se separó por filtración la urea formada y se precipitó el filtrado con solución de hielo/cloruro sódico. El  
25. precipitado se recogió en acetato de etilo, se lavó con bicarbonato sódico, con ácido clorhídrico y con agua y se secó. La recristalización en acetato de etilo/éter de petróleo proporcionó N<sup>α</sup>-(10-undecenoil)-(N<sup>ε</sup>-ftaloil)-L-Lys-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> purificado. 21 g de esta última substancia



- se disolvieron en 250 cc de acetona. Se añadieron 50 cc de agua y 25 cc de ácido clorhídrico concentrado, y la mezcla resultante se hirvió en reflujo durante 3 1/2 horas. Luego se la concentró en vacío a 40°, se la extrajo
5. por tres veces con acetato de etilo y se la recristalizó de acetato de etilo/éter de petróleo, con lo que se obtuvo  $N^{\alpha}$ -(10-undecenoil)-(N $\epsilon$ -ftaloil)-L-Lys-OH, que funde a 114-116°
10.  $N^{\alpha}$ -Z-(N $\epsilon$ -ftaloil)-L-Lys-OH (véase el Ejemplo 13)
15. 15 g (0,048 moles) de N $\epsilon$ -ftaloil-L-Lys-OH . HCl se disolvieron en 150 cc de agua y 100 cc de acetona y luego se agitaron a 4-5° junto con 6 g de óxido de magnesio. A continuación, en el curso de 45 minutos, se añadieron a la mez, gota a gota, 9,0 g (0,053 moles) de cloruro de carbobenzoxi en 30 cc de acetona. Después de agitar durante 4 horas más a 5-10°, se acidificó la mezcla, se la concentró en vacío hasta la mitad de su volumen y se la
20. extrajo con acetato de etilo. Seguidamente se extrajo este por completo con bicarbonato potásico al 5%, y los extractos, después de acidificación, se extrajeron una vez más con acetato de etilo. El secado y la concentración en vacío proporcionaron 14,5 g  $N^{\alpha}$ -Z-(N $\epsilon$ -ftaloil)-L-
25. -Lys-OH, en forma de una masa vídriosa, que no cristalizó

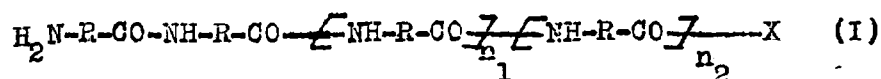


277858

N O T A

Descrito el invento se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones, con prioridad de las patentes suizas Nº 6366/61 del 1 de junio de 1961 y Nº 13988/61 del 1 de diciembre de 1961, existiendo en ambas unidad de invención.

1. Un procedimiento para la fabricación de péptidos, caracterizado por el hecho de que comprende preparar derivados péptidos de la fórmula general I



10. en que  $n_1$  y  $n_2$  representan cada uno cero o la unidad  
X representa un grupo hidroxilo, alcoxi, amino, alquil-amino, dialquil-amino o hidrazino, y cada
15. R representa el radical de un ácido alfa-amino-carboxílico exento de sus grupos alfa-amino y carboxilo, al paso que uno por lo menos de estos radicales lleva un grupo amino y la molécula contiene por lo menos un grupo alifático de cadena larga, elegido en el grupo constituido por un sustituyente acilo alifático de cadena larga en un grupo amino de componente aminoácido, no participante en un enlace péptido, y un sustituyente alifático de cadena larga comprendido por X cuando X
- 20.
- 25.





en que a, b, c, y d representan cada uno cero o la unidad, pero totalizan 0, 1 o 2,

Y representa un átomo de halógeno o un grupo hidróxi, azido, fenoxi, nitro-fenoxi o

5. fenil-mercapto o el radical de un anhídrido con un ácido inorgánico u orgánico,

X<sup>1</sup> representa un grupo alcoxi, amino, alquil-amino, dialquil-amino o hidróxi en forma de una sal con una base inorgánica u orgánica y cada

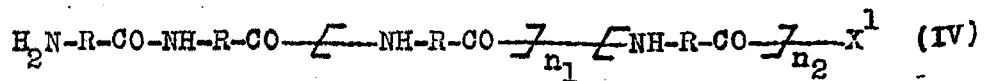
10.

R representa el radical de un ácido alfa-amino-carboxílico exento de sus grupos alfa-amino y carboxilo, al paso que uno por lo menos de estos radicales lleva un grupo amino, y todos los grupos amino, con la excepción del que termina la cadena de la fórmula III en su extremo izquierdo, están protegidos por grupos protectores y/o grupos acilo de cadena larga eliminables,

15.

20. se condensan entre sí, con escisión del compuesto H-Y, para formar un dipéptido, tripéptido o tetrapéptido de la fórmula general IV

25.



en que H y X<sup>1</sup> tienen el significado expresado antes,

n<sub>1</sub> y n<sub>2</sub> representan cero o la unidad y todos los grupos amino están protegidos del modo indicado al exponer las

30.

= 51 = 277358



fórmulas II y III anteriores,

los péptidos que no contienen un grupo N-acilo de cadena larga ni contienen en el grupo  $\text{COX}^1$  terminal un sustituyente N-alquilo de cadena larga se convierten luego

5. en los péptidos correspondientes que están substituídos por grupos N-acilo o N-alquilo de cadena larga, mediante cambio de los grupos protectores eliminables selectivamente por un grupo acilo de cadena larga, por lo menos, o mediante la introducción de un substituyente N-alquilo
10. de cadena larga en la función carboxilo terminal ; el producto resultante se convierte en una hidrazida, si es necesario, se escinden de los péptidos resultantes los grupos protectores eliminables y, si se desea, se convierten los productos en sales de adición de ácido.
15. 4. Un procedimiento en conformidad con lo definido en la reivindicación 3, caracterizado por el hecho de que el símbolo X del material de partida de la mencionada fórmula II es un grupo hidroxil y la condensación se efectúa en presencia de un agente condensante.
20. 5. Un procedimiento en conformidad con lo definido en la reivindicación 4, caracterizado por el hecho de que el agente condensante empleado es una carbodiimida (por ejemplo, díciclo-hexil-carbodiimida) o un carbonilimidazol.
25. 6. Un procedimiento en conformidad con lo definido en cualquiera de las reivindicaciones del procedimiento precedentes, caracterizado por el hecho de que se condensan dos ácidos alfa-aminocarboxílicos para formar un dipéptido.
30. 7. Un procedimiento en conformidad con lo de-



- definido en cualquiera de las reivindicaciones de procedimiento precedentes, caracterizado por el hecho de que el grupo alquilo o acilo de cadena larga contiene 10 átomos de carbono por lo menos (de preferencia, 10 a 20 átomos de carbono, como en los grupos palmitoilo o estearoilo).
5. 8. Un procedimiento en conformidad con lo definido en cualquiera de las reivindicaciones de procedimiento precedentes, caracterizado por el hecho de que se produce un péptido con solamente un grupo N-acilo o N-alquilo de cadena larga.
10. 9. Un procedimiento en conformidad con lo definido en cualquiera de las reivindicaciones de procedimiento precedentes, caracterizado por el hecho de que se usa un ácido alfa-aminocarboxílico ópticamente activo (de preferencia, L).
15. 10. Un procedimiento en conformidad con lo definido en cualquiera de las reivindicaciones de procedimiento, caracterizado por el hecho de que se usa como material de partida D- o L- o D,L-lisina.
20. 11. Un procedimiento en conformidad con lo definido en cualquiera de las reivindicaciones de procedimiento precedentes, caracterizado por el hecho de que se condensa N<sup>ε</sup>-palmitoil-N<sup>ε</sup>-carbобензохи-L-lisina con N<sup>ε</sup>-carbобензохи-L-lisina o bien se condensa N<sup>α</sup>,N<sup>ε</sup>-carbобензохи-L-lisina con N<sup>ε</sup>-palmitoil-L-lisina, o bien se condensa ácido N<sup>α</sup>-palmitoil-N<sup>γ</sup>-carbобензохи-L-(alfa,gamma-diamino-butírico) con ácido N<sup>γ</sup>-carbобензохи-L-(alfa,gamma-diamino-butírico), o bien se condensa ácido N<sup>α</sup>-formil-N<sup>γ</sup>-carbобензохи-L-(alfa,gamma-diamino-butírico) con ácido N<sup>γ</sup>-palmitoil-L-(alfa,gamma-diamino-butírico), o bien se condensa
25. N<sup>α</sup>-palmitoil-N<sup>ε</sup>-carbобензохи-L-ornitina con L-nitro-arginina,
- 30.



- o bien se condensa  $N^{\alpha}$ -palmitoil- $N^{\epsilon}$ -carbобензохи-L-орнитина con  $N^{\epsilon}$ -carbобензохи-L-орнитина; en cuyo procedimiento cada uno de los ácidos alfa-aminocarboxílicos mencionados en segundo lugar se emplea en forma de sal sódica, en forma del éster (especialmente el éster metílico o etílico) o en forma de la amida.
- 5.
12. Un procedimiento en conformidad con lo definido en cualquiera de las reivindicaciones de procedimiento precedentes, caracterizado por el hecho de que se condensa  $N^{\alpha}$ -carbобензохи-L-(nitro-arginina) con el éster metílico o etílico de la L-(nitro-arginina) y el grupo carbобензохи se substituye por el grupo palmitoilo, mientras se elimina el grupo protector nitro.
- 10.
13. Un procedimiento para la fabricación de péptidos.
- 15.
- Según se describe y reivindica en la presente memoria, que consta de 53 hojas, foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras.

Madrid, a 30 de mayo de 1962.

30.

p. a. *GABRIEL SERRA*