

RAN 4440/75



**289607**

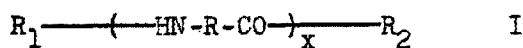
P A T E N T E  
D E  
I N V E N C I O N

por "UN PROCEDIMIENTO PARA PREPARAR COMPOSICIONES DE MATERIA CONSTITUIDAS POR UNA MEZCLA DE OLIGOPEPTIDOS", a favor de la firma suiza F. HOFFMANN-LA ROCHE & CO. A.G., de Basilea (Suiza).

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

Este invento se refiere a nuevas composiciones de materia que comprenden una mezcla de oligopéptidos, así como a un procedimiento para preparar tales composiciones. Más particularmente, las nuevas composiciones de materia de este invento comprenden una mezcla de oligopéptidos de la fórmula



donde

R es el radical de un ácido alfa-aminocarboxílico básico carente de sus grupos alfa-amino y car-



= 2 =

289607

boxílico;

R<sub>1</sub> es el radical acílico de un ácido graso superior;

R<sub>2</sub> se elige en el grupo constituido por hidroxí, alcoxi, amino, alquilamino, dialkilamino e hidrazino, y

x es un número entero por valor de 2 a 20,

y sus sales de adición de ácido.

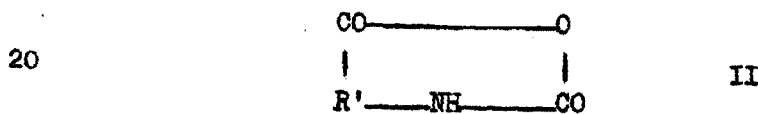
En una modalidad preferida de este invento, la mezcla de oligopéptidos contiene, como elementos principales, di-, tri-, tetra-, penta- o hexapéptidos. Se prefiere en particular una mezcla que contenga dipéptidos y tripéptidos.

Los oligopéptidos de la fórmula I se derivan de ácido alfa-aminocarboxílicos básicos, tales como, por ejemplo, la lisina, la arginina, la ornitina, el ácido alfa-gamma-diamino-butírico, el ácido alfa,beta-diamino-propiónico, la histidina y análogos. Así pues, en uno de los aspectos del invento la mezcla de oligopéptidos contiene, como componentes integrantes, los radicales de alfa-aminoácidos básicos que se presentan naturalmente. Estas mitades de aminoácido pueden aparecer en forma ópticamente activa o como una mezcla isomérica. El radical representado por el símbolo R que aparece en la cadena de los oligopéptidos puede derivarse de mitades alfa-aminocarboxílicas idénticas o diferentes. Los grupos al-



coxi, alquilamino y dialquilamino comprendidos por el símbolo  $R_2$  se derivan de preferencia de mitades de alkilo inferior, tales como metilo, etilo y análogos. El radical acílico de un ácido graso comprendido por  $R_1$  se deriva de preferencia de un ácido carboxílico que contenga 10 átomos de carbono por lo menos. De conveniencia,  $R_1$  contiene de 10 a 20 átomos de carbono. El ácido graso superior de que se deriva dicha mitad es de conveniencia un ácido monocarboxílico hidrocarburo que contiene una cadena ininterrumpida de siete átomos de carbono por lo menos, cadena que puede estar saturada o insaturada (y también poliinsaturada) y carecer de ramificación. Radicales preferidos de ácido graso superior son el palmitoilo y el estearoilo

Las nuevas composiciones de materia de este invento, constituidas por una mezcla de oligopéptidos acilados de cadena larga, pueden prepararse por un procedimiento que consiste en hacer reaccionar, en presencia de un disolvente orgánico, un compuesto de la fórmula



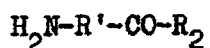
donde  $R_1$  es el radical de un ácido alfa-aminocarboxílico básico carente de sus grupos alfa-amino y carboxílico, cuyo grupo omega-amino está protegido,

25



con un compuesto (que en adelante se designará como el compo-  
nente amínico) elegido en el grupo constituido por el amoniaco,  
la alquilamina, la dialkilamina, la hidrazina y un compuesto  
de la fórmula

5



III

donde

R' y R<sub>2</sub> tienen el mismo significado que antes,

10

en acilar la composición oligopéptida así obtenida, con el  
radical acílico R<sub>1</sub> de un ácido graso superior, en disociar  
los grupos protectores presentes y, si se desea, en conver-  
tor los péptidos resultantes en sus sales de adición de áci-  
do.

15

Consecutivamente a la reacción inicial de un com-  
puesto de la fórmula II, el producto reaccional oligopéptido  
pueda, si se desea, saponificarse y reesterificarse, o bien  
reesterificarse y reamidarse, antes de la acilación. Por otra  
20 parte, la saponificación, la reesterificación o la reesteri-  
ficación y reamidación pueden efectuarse, si se desea, subsi-  
guientemente. Como se ha dicho antes, los radicales alfa-amino-  
carboxílicos básicos comprendidos por el símbolo R' en las fór-  
mulas II y III pueden estar presentes en forma ópticamente ac-  
tiva o como una mezcla isómera. En la reacción según el inven-  
25 to antes descrita, no se altera la configuración isómera ori-



289607

ginal de los materiales de partida.

Los N-carboxi-anhídridos de la fórmula II que se requieren como compuestos de partida pueden prepararse, por ejemplo, a partir de aminácidos básicos (protegidos en el grupo omega-amino) y fosgeno, por reacción en un disolvente inerte como el cloroformo, el tetrahidrofurano, el dioxano o análogos. Los N-carboxi-anhídridos son en su mayoría sustancias cristalinas, estables a temperaturas bajas por periodos prolongados.

El tratamiento de un compuesto de la fórmula II con amoniaco, una alquilamina, un dialkilamina, hidrazina o ácido clorhídrico alcohólico da un compuesto de la fórmula III. Más particularmente, los compuestos de la fórmula III pueden prepararse de la manera siguiente: para sintetizar amidas, se hace reaccionar ventajosamente amoniaco o una amina en exceso en un disolvente inerte como el dioxano, el tetrahidrofurano o el cloroformo, con un compuesto de la fórmula II. Esta reacción puede efectuarse, por ejemplo, bajo presión y en atmósfera de nitrógeno a 0-40°, o sin presión y a temperaturas superiores, hasta unos 80°. Los ésteres pueden prepararse, por ejemplo, tratando un compuesto de la fórmula II con cloruro de hidrógeno gaseoso y el alcohol deseado a temperatura alrededor de la ambiente. Los compuestos pueden aislarse por evaporación del disolvente y, si se desea, por recristalización. Los clorhidratos de aminoácido que se precipitan en el caso de tratamiento con ácido clorhídrico alcohólico pueden convertirse en



289607

las correspondientes bases estéreas según los métodos ordinarios.

La primera etapa del procedimiento de acuerdo con este invento, o sea la reacción del N-carboxi-anhídrido de la fórmula II con amoníaco, alquilamina, dialkilamina, hidrazina o un compuesto de la fórmula III, se efectúa convenientemente en presencia de un disolvente orgánico como el dioxano, el cloroformo, el metanol o la dimetilformamida. Aunque se prefieren los disolventes que se han citado, cabe usar otros disolventes orgánicos. Pueden variarse las proporciones de N-carboxi-anhídrido y de componente amínico dentro de amplios límites. Por ejemplo, pueden usarse un exceso tres veces mayor del componente N-carboxi-anhídrido. De conveniencia, la mezcla reaccional se calienta durante unas 1 a 3 horas, a temperatura entre unos 0° y unos 90°, y de preferencia entre unos 50° y unos 80°. Después de eliminar el disolvente, la mezcla oligomérica obtenida puede purificarse por precipitación. En otro aspecto, la mezcla oligomérica que constituye el producto final puede precipitarse por tratamiento con ácido clorhídrico acuoso. De este modo pueden eliminarse parcialmente los monómeros que están presentes en la mezcla reaccional.

Como es corriente en la química de los péptidos, los grupos reactivos que no participan en la primera etapa son protegidos antes de la reacción. Por lo que atañe al grupo carboxílico del compuesto de la fórmula III, esto se logra de manera sencilla usando el éster correspondiente (de preferencia



289607

un éster alifático inferior) o la amida correspondiente. Los grupos omega-aminicos libres, cuya participación no se desea en la reacción de polimerización, pueden protegerse, en los compuestos de partida de las fórmulas II y III, por conversión  
5 en los derivados carbobenzoxi correspondientes; por ejemplo, mediante la acción de carbobenzoxicloruro sobre los complejos cúpricos correspondientes de los aminoácidos según Schotten-Baumann. Otro método para proteger dichos grupos aminicos consiste en convertirlos en derivados ftalílicos; por ejemplo me-  
10 diante reacción del complejo cúprico del aminoácido con carbalo-oxiftalimida. Los grupos aminicos pueden protegerse también por medio del radical formilo; para este fin, se hace actuar un éster de ácido fórmico sobre el complejo cúprico del amino-ácido.

15 La mezcla de oligopéptidos obtenida puede someterse a varias operaciones subsiguientes, por el orden que se quiera.

Los ésteres obtenidos después de la condensación pueden saponificarse de manera convencional; por ejemplo, con  
20 álcali y a temperatura ambiente.

La introducción del radical de cadena larga  $R_1$  se efectúa, por ejemplo, mediante tratamiento con un derivado reactivo, verbigracia un haluro, y en especial el cloruro, o un anhídrido de un ácido de la fórmula  
25



= 8 =

289607

$R_1 - OH$

IV

donde  $R_1$  tiene el mismo significado que antes,

en presencia de una base terciaria (tal como, por ejemplo, la trietilamina o la piridina) en un disolvente inerte (tal como, por ejemplo, la dimetilformamida).

5           Se ha comprobado que es conveniente retransformar los radicales carboxílicos que puedan existir en los oligopéptidos en ésteres o amidas, por reesterificación o por reesterificación y reamidación. Esto puede realizarse, por ejemplo, antes o después de la acilación de cadena larga, por tratamiento, 10 cuando se ha de efectuar reesterificación, con ácido clorhídrico alcohólico o, de preferencia, con cloruro de tionilo y alcohol (por ejemplo, un alcohol inferior) y, cuando se ha de efectuar reamidación, por reacción con amoníaco, con aminas primarias o secundarias o con hidrazinas.

15           Los radicales carbobenzoxi que están presentes como grupos protectores para los grupos omega-amínicos se disocian convenientemente por hidrogenación catalítica. Los radicales ftalílicos que puedan estar presentes como grupos protectores pueden eliminarse después de la adición de hidra- 20 zina por tratamiento con ácido clorhídrico. Los grupos amínicos que están protegidos por grupos formílicos pueden liberarse, por ejemplo, mediante ácidos minerales en frío.



289607

La mezcla de oligopéptidos obtenida puede convertirse en una mezcla de sales de adición de ácido por tratamiento con ácidos inorgánicos u orgánicos, según métodos conocidos. Las sales preferidas se obtienen, por ejemplo, con  
5 ácidos tales como los ácidos halohídricos (en especial el ácido clorhídrico), el ácido fosfórico, el ácido sulfúrico, el ácido acético o el ácido cítrico.

Las nuevas composiciones de materia de este invento son útiles como preservadores y desinfectantes. Más  
10 particularmente, se caracterizan por actividad antibacteriana contra las bacterias patógenas y apatógenas grampositivas y gramnegativas, así como contra los fermentos. Además, las composiciones de materia de este invento son prácticamente atóxicas.

Las composiciones de materia de este invento que contienen una de las formas estereoisoméricas L y D de los aminoácidos, o las dos, son útiles en el concepto antes indicado. Los productos que poseen la forma L son descompuestos por los jugos  
15 intestinales. Las nuevas composiciones de materia de este invento pueden servir de preservadores o agentes desinfectantes tratando el material que ha de preservarse o desinfectarse con  
20 una cantidad de la composición de materia de este invento suficiente para preservar o desinfectar eficazmente el material así tratado.

Las composiciones de este invento pueden usarse  
25 también como medicamentos en forma de preparaciones farmacéu-



= 10 =

289607

5 ticas que contengan una mezcla de oligopéptidos de la fórmula I,  
 o sus sales de adición de ácido aceptables en farmacia, en mez-  
 cla con un excipiente farmacéutico orgánico o inorgánico, só-  
 lido o líquido. Las preparaciones farmacéuticas pueden tener  
 forma sólida, por ejemplo de pastillas, grageas, supositorios  
 o cápsulas, o forma líquida, por ejemplo de soluciones, emul-  
 siones o suspensiones.

10 Los ejemplos que siguen ilustran este invento,  
 pero sin limitarlo. En ellos, igual que antes, todas las  
 temperaturas se expresan en grados centígrados.

En los ejemplos que siguen se emplean estas abre-  
 viaturas:

- 15 Z = carbobenzoxi  
 Palm = palmitoilo  
 DMF = dimetilformamida  
 Lys = lisilo =  $-\text{NH}-\underset{\substack{| \\ (\text{CH}_2)_4 \\ | \\ \text{NH}_2}}{\text{CH}}-\text{CO}-$   
 20 Orn = ornitilo =  $-\text{HN}-\underset{\substack{| \\ (\text{CH}_2)_3 \\ | \\ \text{NH}_2}}{\text{CH}}-\text{CO}-$

EJEMPLO 1.

25 1. 45,8 g de anhídrido de N<sup>alfa</sup>-carboxi-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys-  
 en 200 cc de dioxano se tratan con una solución de 14,7 g de  
 H-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys-OCH<sub>3</sub> en 30 cc de dioxano; luego se calienta



289607

la mezcla a 80° durante una hora y agitando, se la enfría, se la ajusta a pH 3 con ácido clorhídrico metanólico 4-n y se la evapora hasta sequedad en vacío a 45°, lo que da 52 g de un producto bruto resinoso, constituido en su mayor parte por  
5 H-oligo(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys-OCH<sub>3</sub>.

2. Una solución de 60 g de este producto en 700 cc de metanol se trata con una mezcla, preparada a -10°, de 7 cc de cloruro de tionilo y 100 cc de metanol y la mezcla resul-  
10 tante se agita luego durante 48 horas a 20°, bajo un colector de cloruro de calcio. Resulta una suspensión que es evaporada en vacío a 45°, con lo que se obtienen 60 g de una resina viscosa cuyos grupos carboxílicos terminales aparecen totalmente en forma esterificada.

15 3. 52 g del producto bruto obtenido según el párrafo primero de este ejemplo se disuelven en 400 cc de dimetilformamida y se tratan con 30 cc de trietilamina. Agitando a 10-20°, se añaden a gotas en el curso de 20 minutos, 24,4 g de cloruro de palmitoilo. La mezcla resultante se agita durante 16 horas  
20 a pH 8-9. El gel espeso que se obtiene se licua calentándolo brevemente y luego se vierte en 2 litros de ácido clorhídrico 0,1-n. La mezcla resultante se filtra luego bajo succión y el precipitado se lava con agua y se precipita de (dimetilformamida)/(amoníaco 0,1-n) con adición de un poco de cloruro amónico. A continuación se separa el precipitado filtrando bajo  
25 succión, se le lava con agua, se le seca en vacío a 50° y se la reprecipita una vez más de metanol/éter. Se deja la mezcla



289607

en reposo a 0° durante 24 horas, se filtra luego por succión, se lava con éter el residuo del filtro y se le seca en vacío a 50°. Se obtiene N<sup>alfa</sup>-Palm-oligo-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys-OCH<sub>3</sub>, de punto de fusión 124-130°.

5

4. Por tratamiento análogo del producto de esterificado (obtenido según el párrafo segundo de este invento) con cloruro de ácido palmítico, se obtiene de la manera correspondiente un producto oligomérico de punto de fusión 120-136°.

10

5. 66 g del producto bruto obtenido según el párrafo tercero de este ejemplo se agitan durante 48 horas bajo colector de cloruro de calcio, en una mezcla, preparada a -10°, de 500 cc de metanol y 7 cc de cloruro de tionilo. La suspensión resultante se evapora en vacío a 45° y el residuo se reprecipita de (dimetilformamida)/(ácido clorhídrico 1-n); (dimetilformamida)/(amoníaco 1-n) y metanol/éter, lo que da 60 g de N<sup>alfa</sup>-Palm-oligo-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys-OCH<sub>3</sub>, de punto de fusión 120°-130°.

15

20

6. 53 g del N<sup>alfa</sup>-Palm-oligo-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys-OCH<sub>3</sub> obtenido por reesterificación (o sea según el párrafo quinto de este ejemplo) se disuelven en 500 cc de dimetilformamida y se tratan en una autoclave con 100 g de amoníaco al 100%. Luego se sacude la mezcla durante 20 horas a 40° y con presión de nitrógeno de 30 atmósferas y a continuación se la agita en 2 litros de solución acuosa el 5% de cloruro amónico, se separa el precipitado filtrando por succión, se le lava con agua y se

25



289607

le seca en vacío a 80°. Después se le reprecipita de (dimetil-formamida)/éter, lo que da 40 g de N<sup>alfa</sup>-Palm-oligo-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys-NH<sub>2</sub>, de punto de fusión 180-196° (sinterización a 175°).

7. 20 g del éster metílico obtenido según el párrafo  
5 cuarto de este invento se disuelven en 200 cc de ácido acético  
glacial; se enfría la solución y, después de añadir 2 g de car-  
bón paladiado, se la hidrogena con hidrógeno a presión normal  
y temperatura ambiente. A continuación se separa el cataliza-  
dor, se evapora la solución en vacío a 45°, se evapora el jar-  
10 rabe por dos veces con 50 cc de benceno cada vez y se seca.  
Se recoge el residuo en un poco de metanol, se ajusta a pH 3  
con ácido clorhídrico metanólico 4-n y se agita la solución  
en éster acético. Se separa el precipitado filtrando por suc-  
ción y se le precipita de metanol/(éster acético), lo que da  
15 10 g de clorhidrato de N<sup>alfa</sup>-Palm-oligo-L-Lys-OCH<sub>3</sub> que al ser  
calentado funde despacio a partir de 170°, con descomposición;  
 $[\alpha]_D^{20} = -19,5^{\circ}$  (c = 2 en agua); N = 12,85%. Cl = 15,75%.  
OCH<sub>3</sub> = 2,44%.

20 EJEMPLO 2.

1. 45,8 g de anhídrido de N<sup>alfa</sup>-carboxi-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys  
y 15,3 g de H-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> se hacen reaccionar y se  
acaban según el procedimiento expuesto en el párrafo primero del  
ejemplo 1. Se obtienen 50 g de un producto bruto, que contie-  
25 ne principalmente H-oligo-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>.



= 14 =

289607

2. 40 g de este producto bruto se palmitoilan según el método descrito en el párrafo tercero del ejemplo 1, y se obtienen así 59 g de  $N^{\text{alfa}}$ -Palm-oligo-( $N^{\text{epsilon}}$ -Z)-L-Lys- $-OC_2H_5$ , de punto de fusión 125-136°.

5 3. Por reesterificación según el método del párrafo quinto del ejemplo 1 con ácido clorhídrico etanólico, se obtienen 58 g de la anterior sustancia con punto de fusión 140-150°.

10 4. 26 g de  $N^{\text{alfa}}$ -Palm-oligo-( $N^{\text{epsilon}}$ -Z)-L-Lys- $-OC_2H_5$  se descarboxilan y acaban según el método del párrafo séptimo del ejemplo 1, lo que da 14 g de clorhidrato de  $N^{\text{alfa}}$ -Palm-oligo-L-Lys- $-OC_2H_5$ , que funde despacio a partir de 170°, con descomposición;  $\Delta^{\text{alfa}}/D^{20} = -17,5^\circ$  (c = 2 en agua);  
15 N = 12,33%, Cl = 13,92%,  $OC_2H_5 = 5,78\%$ .

EJEMPLO 3.

1. Una solución de 45,8 g de anhídrido de  $N^{\text{alfa}}$ -carboxi-  
20  $-(N^{\text{epsilon}}$ -Z)-L-Lys en 200 cc de dioxano se combina con una solución de 13,95 g de H-( $N^{\text{epsilon}}$ -Z)-L-Lys-NH<sub>2</sub> en 50 cc de dioxano y esta mezcla reaccional se calienta a 80° durante una hora, agitando, y a continuación se agita en 1,5 litros de ácido clorhídrico 0,1-n a temperatura del hielo. El precipitado resultante se separa filtrando por succión, se lava con agua y se  
25 seca en vacío a 50°, lo que da 45 g de clorhidrato de H-oligo-  
 $-(N^{\text{epsilon}}$ -Z)-L-Lys-NH<sub>2</sub>, de punto de fusión 178-190° (sinterización a 155°).



= 15 =

289607

2. 35 g de este compuesto se hacen reaccionar con cloruro de ácido palmítico según el método del párrafo tercero del ejemplo 1. La mezcla reaccional resultante se vierte en ácido acético 1-n y se reprecipita de (dimetilformamida)/(amoníaco 5 1-n), lo que da 45 g de un producto bruto constituido en su mayor parte por  $N^{\text{alfa}}$ -Palm-oligo-( $N^{\text{epsilon}}$ -Z)-L-Lys-NH<sub>2</sub> y que funde entre 160-190°.
3. 66 g de este compuesto se reesterifican con alcohol metílico y se reprecipitan de (dimetilformamida)/(ácido acético 1-n), de (dimetilformamida)/(ácido clorhídrico 1-n) y de (dimetilformamida)/agua según el método del párrafo 5° del ejemplo 1. Se obtienen así 53 g de un producto que funde entre 154 y 180.
- 15 4. 20 g del producto así obtenido se reanidan según el método del párrafo sexto del ejemplo 1, después de lo cual el tratamiento final da 16 g de  $N^{\text{alfa}}$ -Palm-oligo-( $N^{\text{epsilon}}$ -Z)-L-Lys-NH<sub>2</sub>, de punto de fusión 183-196° (sinterización a 178°).
- 20 5. 33 g de esta muestra se descarbobenciloxilan por hidrogenación según el método del párrafo séptimo del ejemplo 1, y el producto de la reacción se aísla en forma de clorhidrato. Después de dos reprecipitaciones en agua/acetona, se obtienen 20 g de clorhidrato de  $N^{\text{alfa}}$ -Palm-oligo-L-Lys-NH<sub>2</sub>, que funde despacio a partir de 228°, con descomposición;  $\frac{[\alpha]_D^{20}}{c} =$  25 -29,2° (c = 2 en agua); N = 13,85%; Cl = 15,58%.



= 16 =

289607

6. Por disociación hidrogenolítica del producto no reesterificado y reamidado, se obtienen de manera análoga 23 g de una mezcla de clorhidrato de N<sup>alfa</sup>-Palm-oligo-L-Lys-NH<sub>2</sub> y clorhidrato de N<sup>alfa</sup>-Palm-oligo-L-Lys-OH, que funde a partir de 223°, con descomposición;  $[\alpha]_D^{20} = 28^\circ$  (c = 2 en agua); Cl = 14,29%.

EJEMPLO 4.

13,95 g de H-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys-NH<sub>2</sub> en 50 cc de dimetilformamida se tratan con una solución de 45,8 g de anhídrido de N<sup>alfa</sup>-carboxi-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys en 100 cc de dimetilformamida y se agita esta mezcla reaccional durante una hora a 80°. Luego se la agita en ácido clorhídrico 0,1-n y se la somete al tratamiento final del párrafo primero del ejemplo 3, lo que da 46 g de clorhidrato de H-oligo-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys-NH<sub>2</sub>, de punto de fusión 190-200° (sinterización a 170°).

EJEMPLO 5.

Una solución de 45,8 g de anhídrido de N<sup>alfa</sup>-carboxi-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys en 300 cc de cloroformo se trata a 0° con una solución de 850 mg de amoníaco al 100% en 30 cc de cloroformo y luego se agita la mezcla a 50° durante 3 horas. El gel espeso se agita con 700 cc de éter y se filtra por succión, y el residuo se lava con éter y se seca en vacío a 50°. Se disuelve la substancia en dimetilformamida y, procediendo como se ha descrito en el párrafo primero del ejemplo 3, se la agita en ácido clorhídrico 0,1-n y se la acaba, lo que da 40 g de



289607

clorhidrato bruto de H-oligo-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys-NH<sub>2</sub>, de punto de fusión 188-200° (sinterización a 170°).

EJEMPLO 6.

5 Una suspensión de 45,8 g de anhídrido de N<sup>alfa</sup>-carboxi-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys en 250 cc de metanol se trata a 0° con una solución de 850 mg de amoníaco al 100% en 26 cc de metanol y se agita la mezcla durante 3 horas a 50°. Se evapora la solución en vacío a 50°, se disuelve el residuo en 60 cc de di-  
10 metilformamida y, como en el primer párrafo del ejemplo 3, se agita en ácido clorhídrico 0,1-n y se acaba, lo que da 37 g de clorhidrato bruto de H-oligo-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys-OH, de punto de fusión 190-200° (sinterización a 168°).

EJEMPLO 7.

15 1. 14,2 g del clorhidrato de H-digo-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys-NH<sub>2</sub> obtenido según el párrafo primero del ejemplo 3 se hacen reaccionar con cloruro de ácido fitánico (según el método descrito en el párrafo tercero del ejemplo 1 para la palmitoilación), lo que da 13 g de clorhidrato bruto de N<sup>alfa</sup>-fitanoil-  
20 oligo-(N<sup>epsilon</sup>-Z)-L-Lys-NH<sub>2</sub>, de punto de fusión 190-203°.

2. 10 g del compuesto fitanoílico así obtenido se disocian hidrogenolíticamente según el método del párrafo séptimo del ejemplo 1 y se aísla el producto de la reacción  
25 en forma de clorhidrato. Se obtienen 4,8 g de una mezcla de clor.



= 18 =

289607

hidrato de  $N^{\text{alfa}}$ -fitanoil-oligo-L-Lys-NH<sub>2</sub> y clorhidrato de  $N^{\text{alfa}}$ -fitanoil-oligo-L-Lys-OH, que funde a partir de 220° (descomposición);  $[\alpha]_D^{20} = -36,3^{\circ}$  (c = 2 en agua); N = 13,59%, Cl = 14,75%.

5 EJEMPLO 8.

1. 27 g de  $N^{\text{alfa}}$ -Palm-oligo-( $N^{\text{epsilon}}$ -Z)-L-Lys-OCH<sub>3</sub> obtenido según el ejemplo 1 se disuelven en 250 cc de metilformamida, se tratan en porciones con un total de 36 cc de sosa cáustica 1-n y se agitan a 20° durante 20 horas. Se filtra la solución y se la agita en 1 litro de ácido clorhídrico 1-n. El precipitado resultante se separa filtrando por succión, se lava con agua y se seca. La reprecipitación de (dimetilformamida)/(agua) da 24 g de  $N^{\text{alfa}}$ -Palm-oligo-( $N^{\text{epsilon}}$ -Z)-L-Lys-OH, de punto de fusión 125-140°.

15

2. 20 g de este compuesto se disocian hidrogenolíticamente según el método del párrafo séptimo del ejemplo 1 y se aislan en forma de clorhidrato, lo que da 11 g de clorhidrato de  $N^{\text{alfa}}$ -Palm-oligo-L-Lys-OH, que funde a partir de 245° con descomposición (coloración parda a partir de 200°);  $[\alpha]_D^{20} = -13,5$  (c = 2 en agua); N = 12,58%.

20

EJEMPLO 9.

1. 6,8 g de H-(N -Z)-L-Orn-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub> se calientan a 80° en 150 cc de dioxano absoluto y, agitando, se tratan bastante vivamente con 20 g de anhídrido de  $N^{\text{alfa}}$ -carboxi-( $N^{\delta}$ -Z)-L-Orn

25



= 19 =

289607

en dioxano. Luego se calienta la mezcla en reflujo durante 1 hora y a continuación se la combina, todavía caliente, con una mezcla de 800 cc de agua y 65 cc de ácido acético glacial. Al cabo de 15 minutos se filtra por succión la mezcla resultante, se lava el residuo con 1000 cc de agua y se seca en vacío, 5 lo que da 13,4 g de H-oligo-(N<sup>5</sup>-Z)-L-Orn-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, de punto de fusión 167°.

2. 100 cc de etanol absoluto se enfrían hasta -10°. y se tratan con 1,7 cc de cloruro de tionilo. Después de añadir 13,4 g del compuesto obtenido según el párrafo primero 10 de este ejemplo, se deja en reposo la mezcla reaccional durante 2 días, a temperatura ambiente. Después de evaporar el disolvente en vacío, se recoge la mezcla en 50 cc de dimetilformamida y se la trata con 7,0 cc de trietilamina. A 15 continuación se añaden gota a gota, a -10° y con agitación rápida, 4,7 g de cloruro de lauroilo. Se agita la mezcla a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego se la vierte en una mezcla de 120 cc de agua y 30 cc de ácido acético glacial. Después de filtrar por succión, se vuelve a disolver el residuo en 60 cc de dimetil-formamida y se le añade, agitando, a 20 una mezcla de 150 cc de agua y 10 cc de amoníaco concentrado. A continuación se separa el residuo por filtración y se le seca. El residuo secado se calienta hasta ebullición por tres veces, con 200 cc de éter de petróleo cada vez; se filtra, se seca y se reduce a polvo, lo que proporciona 13,6 g de N<sup>alfa</sup>- 25 -lauroil-oligo-(N<sup>5</sup>-Z)-L-Orn-OC<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, de punto de fusión 180-190°.



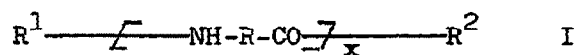


289607

NOTA

Descrito el invento se declaran nuevas y de propia invención las siguientes reivindicaciones, con prioridad de la demanda de patente suiza Nº 8061/62 del 4 de julio de 1962.

5. 1. Un procedimiento para preparar composiciones de materia constituidas por una mezcla de oligopéptidos de la fórmula general



10.

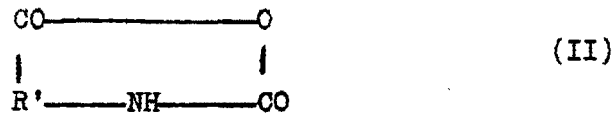
donde

- R es el radical de un ácido alfa-aminocarboxílico básico carente de sus grupos alfa-amínico y carboxílico;
15. R<sup>1</sup> es el radical acílico de un ácido graso superior;
- R<sup>2</sup> es un grupo hidroxilo, alcoxilo, amino, alquil-amino, dialkilamino o hidrazino, y
- x es un número entero por valor de 2 a 20,
20. y sus sales de adición de ácido, caracterizado porque consiste en hacer reaccionar, en presencia de un disolvente orgánico, un compuesto de la fórmula general



= 22 =

2 8 9 6 0 7



donde R' es el radical de un ácido alfa-aminocarboxílico básico carente de sus grupos alfa-amínico y carboxílico, cuyo grupo omega-amino está protegido,

5 con amoniaco, una alquilamina, una dialkilamina, hidrazina o un compuesto de la fórmula general



10 donde R' y R<sup>2</sup> tienen el significado expuesto antes, acilar la composición oligopéptida así obtenida con el radical acílico R<sup>1</sup> de un ácido graso superior, disociar los grupos protectores existentes y, si se desea, convertir los

15 péptidos resultantes en sus sales de adición de ácido.

20 2. Un procedimiento según se define en la reivindicación 1, caracterizado por el hecho de que la composición oligopéptida, antes o después de la etapa de acilación, se somete a saponificación, a reesterificación o a reesterificación y reamidación.



= 23 =

**289607**

3. Un procedimiento según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 y 2, caracterizado por el hecho de que los compuestos de partida de las fórmulas II y III se derivan de ácidos alfa-aminocarboxílicos dextrógiros, levógiros o dextrolevógiros.
- 5.
4. Un procedimiento según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, caracterizado por el hecho de que los compuestos de partida de las fórmulas II y III se derivan de lisina dextrógira, levógira o dextrolevógira.
- 10.
5. Un procedimiento según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado por el hecho de que la reacción del compuesto de la fórmula II con amoníaco, alquilamina, dialquilamina, hidrazina o el compuesto de la fórmula III se efectúa en presencia de un disolvente orgánico y a temperatura del orden de unos 50 a 80°C.
- 15.
6. Un procedimiento según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado por el hecho de que los grupos omega-aminicos están protegidos por radicales de carbobenzoxi, ftalilo o formilo.
- 20.
7. Un procedimiento según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado por el hecho de que la acilación se efectúa con el grupo acílico del ácido palmítico o esteárico.



**289607**

8. Un procedimiento según se define en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado por el hecho de que el producto de la reacción se somete a reesterificación y, si se desea, a reamidación.

5. 9. Un procedimiento para preparar composiciones de materia constituidas por una mezcla de oligopéptidos.

Según se describe y reivindica en la presente memoria que consta de 24 páginas foliadas y escritas a máquina por una sola de sus caras.

10. Madrid, a 3 de julio de 1963.

F. HOFMANN-LA ROCHE & CO. A.G.

p. a.

**JAME ISEPN MIRALLES**

**PP**