

RAN 4440/78



292 441

292441

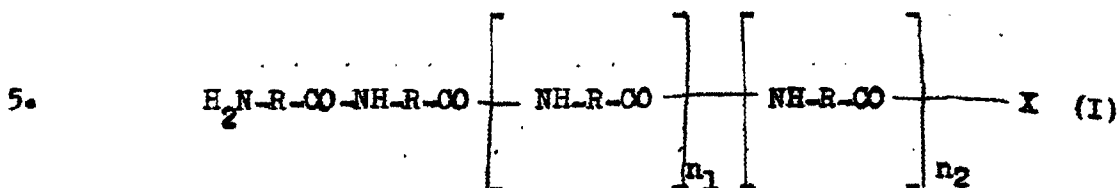
CERTIFICADO
DE
ADICION.

por "MEJORAS EN EL OBJETO DE LA PATENTE PRINCIPAL N° 277,858"
por "UN PROCEDIMIENTO PARA LA FABRICACION DE PEPTIDOS", a
favor de la firma suiza F. HOFMANN-LA ROCHE & CIE. S.A.,
residente en BASILEA (Suiza).

= . =

MEMORIA DESCRIPTIVA

Objeto de la patente principal n° 277.858
es un procedimiento para preparar péptidos de la fórmula
general



en la que

n_1 y n_2 representan 0 ó 1,



292441

- X representa un grupo hidroxilo, alcoxi, amino, monoalquilamino, dialquilamino o hidrazino y los símbolos
- R significan cada uno un radical, exento del grupo alfa-amino y del grupo carboxilo, de un ácido alfa-aminocarboxílico, conteniendo uno por lo menos de los radicales R un grupo amino y llevando uno por lo menos de los grupos amino de la molécula un radical acilo de un ácido carboxílico alifático, saturado o insaturado.
5. de cadena larga, o bien significando el símbolo X un radical monoalquilamino o dialquilamino con un substituyente alquilo de cadena larga.
10. y sales de adición de ácido de estos compuestos. Estos péptidos y estas sales de adición de ácido se distinguen por su actividad contra los microorganismos patógenos y apatógenos, como las bacterias grampositivas y gramnegativas, o los fermentos. Los compuestos son muy poco tóxicos. Se descomponen por acción de las enzimas proteolíticas, con lo que se
15. forman productos de escisión que no despliegan ya ninguna actividad antibacteriana. Estos compuestos tienen por lo tanto importancia como agentes de conservación, por ejemplo en la industria de la alimentación o de los piensos, así como en calidad de agentes desinfectantes para fines médicos
20. y no médicos.
- 25.

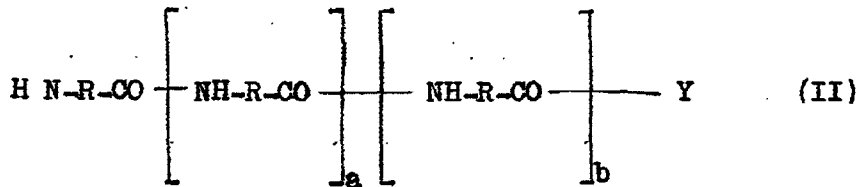


292441

Se ha descubierto que los péptidos de la fórmula I que en lugar de los mencionados radicales acilo de cadena larga contienen radicales alcóxicarbonilo o alquéniloxicarbonilo de cadena larga poseen las mismas propiedades

5. y en consecuencia son utilizables igualmente como agentes de conservación y de desinfección. Se ha descubierto además que estos derivados de N-alcóxicarbonilo o de N-alquéniloxicarbonilo presentan también, en parte, acción coccidiostática y por lo tanto pueden hallar empleo para prevenir, limitar y curar la coccidiosis. Estos nuevos péptidos pueden obtenerse por el procedimiento de la patente citada al principio, nº 277.858.

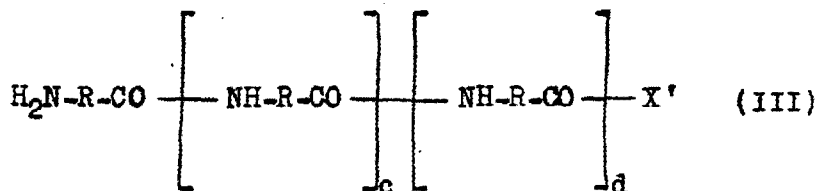
El invento que aquí se expone se refiere en consecuencia a un procedimiento para preparar péptidos de la fórmula I en los que n_1 , n_2 , X y R tienen el significado expuesto antes y en los que uno, por lo menos, de los grupos amino de la molécula lleva un radical alquiloxicarbonilo o alquéniloxicarbonilo de cadena larga, procedimiento que se caracteriza por hacerse reaccionar un compuesto de la fórmula general II





292441

con un compuesto de la fórmula general III



5.

donde

a, b, c y d representan 0, 1 ó 2 y la suma de estos índices 0, 1 ó 2,

Y significa un átomo de halógeno, un grupo hidroxí o azido, un grupo fenoxi, eventualmente nitrado, un grupo fenilmercapto o el radical de un anhídrido con un ácido inorgánico u orgánico.

10.

X' significa un grupo alcoxi, amino, monoalquilamino o dialquilamino o un grupo hidroxí en forma de una sal con una base orgánica terciaria o inorgánica y los símbolos

15.

R significan cada uno un radical, exento del grupo alfa-amino y del grupo carboxilo, de un ácido alfa-aminocarboxílico, conteniendo uno por lo menos de los radicales R un grupo amino y estando además todos los grupos amino existentes en los compuestos II y III, con excepción del gru-

20.

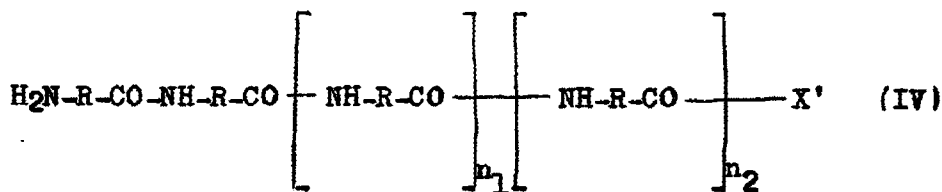


292441

po alfa-amino que en la fórmula III está situado en el extremo izquierdo de la cadena, resguardados por grupos protectores dissociables y/o radicales alcóxicarbonilo o alquenciloxycarbonilo de cadena larga.

5.

con disociación de HY, para formar un dipéptido, tripéptido o tetrapéptido de la fórmula general



10.

donde

R y X' tienen el mismo significado que antes,

n_1 y n_2 representan 0 ó 1 y

todos los grupos amino presentes en la

15.

molécula están protegidos tal como se ha

indicado antes,

por convertirse los péptidos obtenidos, que no contienen en ningún grupo amino radicales alcóxicarbonilo o alquenciloxycarbonilo de cadena larga, mediante cambio de grupos protectores

20.

dissociables selectivamente por uno a lo menos de tales radicales, en los correspondientes péptidos substituidos por grupos N-alcóxicarbonilo o alquenciloxycarbonilo de cadena



232441

larga; por convertirse eventualmente el producto obtenido en una hidrazida, y por disociar del péptido así obtenido los grupos protectores disociables y, eventualmente, convertir los compuestos obtenidos en sales de adición de ácido.

5. Los péptidos de la fórmula I son dipéptidos, tripéptidos o tetrapéptidos sintetizados a partir de ácidos alfa-aminocarboxílicos ligados en forma de alfa-amida, Uno por lo menos de estos ácidos amínicos es un ácido alfa-aminocarboxílico básico, o sea un ácido alfa-aminocarboxílico que, además del grupo alfa-amino, lleva todavía otro grupo básico (como $-NH_2$ o $-NH-C(NH)-NH_2$). Ejemplos de tales ácidos amínicos básicos son: la lisina, la arginina, la ornitina, el ácido alfa,gamma-diaminobutírico y el ácido alfa,beta-diaminopropiónico. Ejemplos de ácidos alfa-aminocarboxílicos no básicos son: la serina, la fenilalanina, la tirosina o la leucina. Se prefieren los dipéptidos y, como componentes estructurales, los ácidos amínicos esenciales, en particular la L-lisina. El grupo alcoxi, representado entre otros por el símbolo X, es en particular un grupo alcoxi inferior, como el grupo metoxi o etoxi, El radical alcóxicarbonilo o alquiloxycarbonilo de cadena larga contiene ventajosamente en la cadena de hidrocarburo por lo menos 8, y de preferencia 8 a 20, por ejemplo 12, 14 ó 16, átomos de carbono. Los radicales representados por los símbolos R pueden derivarse tanto de ácidos alfa-aminocarboxílicos iguales como distin-
- 10.
- 15.
- 20.
- 25.



292441

tos.

Los materiales de partida con grupos N^{α} -alcoxi-carbonilo de cadena larga pueden prepararse, por ejemplo, haciendo reaccionar un éster de ácido alfa-isocianocarboxílico, preparado por métodos conocidos y de la fórmula

5.



en la que R tiene el significado expuesto antes, con un alcohol de cadena larga. De manera correspondiente pueden introducirse los grupos alcoxicarbonilo o alqueniloxi-carbonilo de cadena larga, aún después de efectuada la formación del péptido, en grupos amino liberados. Se pueden además introducir grupos alcoxicarbonilo o alqueniloxycarbonilo en grupos alfa-amino haciendo actuar un cloruro de alcoxicarbonilo o un cloruro de alqueniloxycarbonilo, obtenible a partir de fosgeno y un alcohol, sobre un ácido alfa-amínico o respectivamente un péptido con un grupo alfa-amino libre.

10.

15.

Como es corriente en la química de los péptidos, se protegen antes de la condensación los grupos reactivos que no participan en la formación del enlace péptido. Para el grupo carboxílico, esto se logra de manera sencilla empleando el éster o la amida correspondientes o bien formando sal con una base orgánica terciaria o inorgánica. Los grupos amino libres pueden protegerse, por ejemplo, mediante transformación en los correspondientes derivados carbobenzoxi, verbigracia por acción de carbobenzoxicloruro según Schotten-

20.

25.



292441

- Baumann. El grupo protector carbobenzoxi puede, después de efectuada la condensación, volverse a desdoblar por hidrogenación catalítica. En todo caso, los grupos N-alcoxicarbonilo o N-alquenciloxicarbonilo de cadena larga ya existentes en el material de partida actúan igualmente de grupos protectores en la condensación. Otra posibilidad de protección de los grupos amino consiste en transformarlos en derivados ftalílicos, por ejemplo mediante calentamiento del ácido amínico o del péptido con anhídrido de ácido ftálico.
5. Una vez efectuada la condensación, se obtiene, después de añadir hidrazidas y de tratar con ácido clorhídrico, la liberación de los grupos amino. Los grupos amino pueden protegerse también con radicales formilo, para lo cual se hace actuar sobre los ácidos amínicos o los péptidos ácido fórmico en presencia de anhídrido acético.
10. Cuando existen en la molécula grupos amino protegidos tanto por radicales formilo como por radicales carbobenzoxi, puede lograrse una disociación selectiva desdoblado por hidrogenación catalítica o con ácido bromhídrico/ácido acético sólo los grupos carbobenzoxi, por ejemplo, y dejando así incólumes los grupos formilo. Pero también se pueden disociar selectivamente los grupos formilo, por ejemplo mediante ácidos minerales en frío, en cuyo caso quedan incólumes los grupos carbobenzoxi. De este modo es posible
15. introducir los radicales N-alcoxicarbonilo o N-alquenciloxi-
- 20.
- 25.



292441

carbonilo aún después de efectuada la condensación de los péptidos, por ejemplo mediante reacción con los correspondientes cloruros, como el cloruro de cetiloxicarbonilo.

A continuación se explican con mayor detalle

5. algunas modalidades de realización del procedimiento de este invento:

Método de la carbodiimida:

- Este método puede emplearse cuando se utiliza como material de partida un compuesto de la fórmula II con
10. $Y = OH$, es decir, un ácido aminocarboxílico o un dipéptido o tripéptido con grupo carboxilo terminal libre. Consiste en proceder a la condensación de los dos componentes estructurales del péptido, de las fórmulas II y III, en presencia de un agente de condensación, como una carbodiimida, por
15. ejemplo dicitclohexilcarbodiimida, o carbonildiimidazol. La reacción se efectúa ventajosamente a temperatura baja y en un disolvente, como por ejemplo cloroformo, dimetilformamida o éster acético, en cuyo caso se elimina por filtración la urea originada, pero debe quedar en solución el péptido,
20. que luego puede aislarse del filtrado.

Método de la azida:

En este método el enlace péptido se forma por acción recíproca de una azida de ácido ($Y = N_3$) con un grupo



292441

amino. La azida se obtiene por acción de ácido nitroso sobre la correspondiente hidrazida de ácido. La reacción se efectúa más convenientemente en solución, por ejemplo en éster acético, dimetilformamida, etc. eventualmente en presencia de ácido acético, a temperatura baja.

5.

Método del cloruro de ácido:

Este método consiste en formar el enlace péptido por reacción de un cloruro de ácido ($Y = Cl$) con un grupo amino. Es conveniente partir de cloruros de ácido carboben-

10.

Síntesis con empleo de anhídridos mixtos:

Esta síntesis consiste en que la función carboxílica $-COY$ que en la condensación pasa a formar parte del enlace péptido aparece en forma de un anhídrido mixto, corriente en la química de los péptidos, con un ácido orgánico o inorgánico. Se procede de la manera más conveniente tratando un compuesto de la fórmula II con $Y = OH$, en un disolvente inerte,

15.

20.

como por ejemplo tetrahidrofurano, con una base, por ejemplo trietilamina; haciendo actuar sobre la sal así formada, a temperatura baja, un éster de ácido clorocarboxílico; y haciendo reaccionar el anhídrido mixto originado, sin aisla-



292441

- miento, con un compuesto de la fórmula III, por ejemplo con un éster de ácido aminocarboxílico ($X' = \text{alcoxi}$), o con la sal sódica de un ácido aminocarboxílico ($X' = \text{ONa}$). En concepto de éster de ácido clorocarboxílico pueden emplearse,
5. por ejemplo, el éster metílico, el éster etílico o el éster butílico terciario. Para la preparación de anhídridos reactivos sob utilizables también, entre otros, el anhídrido sulfúrico en dimetilformamida, así como el clorofosfito de dietilo $[(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}-\text{Cl}]$ o el pirofosfito de tetraetilo
10. $[(\text{C}_2\text{H}_5\text{O})_2\text{P}-\text{O}-\text{P}(\text{OC}_2\text{H}_5)_2]$.

Síntesis con empleo de éster activado:

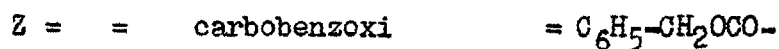
- Esta síntesis: consiste en que la función carbónica ($-\text{COY}$) del compuesto de la fórmula II aparece en forma de lo que se llama "éster activado", por ejemplo en forma de
15. éster de p-nitrofenilo. Este puede obtenerse a partir de un ácido aminocarboxílico protegido, en presencia de piridina, por medio de bisulfito de p-nitrofenilo ($\text{NO}_2-\text{C}_6\text{H}_4-\text{SO}-\text{C}_6\text{H}_4-\text{NO}_2$) y pasa a formar el enlace péptido por reacción con un éster de ácido amínico (X' de la fórmula III = alcoxi)
20. a temperatura ambiente. El producto de la reacción puede depurarse por cristalización. En concepto de éster activado pueden hallar empleo, por ejemplo, el éster de p-nitrofenilo, el éster de 3,5-dinitrofenilo o el éster de tiofenilo.

- En los ejemplos que siguen se utilizan las
25. abreviaturas siguientes:

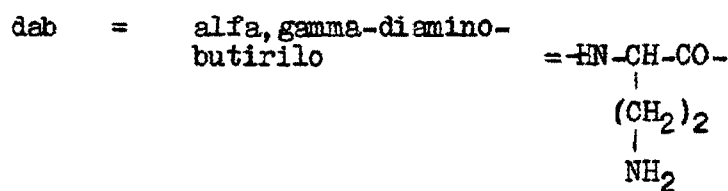


292441

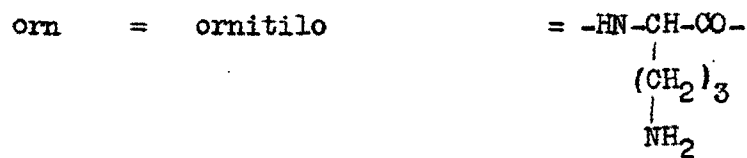
En los ejemplos que siguen se utilizan las abreviaturas siguientes:



5.



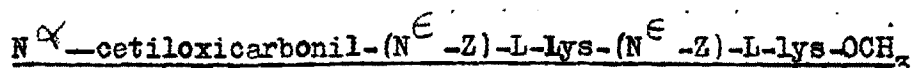
10.





292441

E J E M P L O 1



- 18,3 g (33,3 milimoles) de N^{α} -cetiloxycarbonil-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-OH se disuelven en 150 cc de tetrahydrofurano absoluto y se mezclan a -10° C con 5,4 g (33,3 milimoles) de carbonildiimidazol. Se agita la mezcla a 0° C durante 20 minutos todavía, y luego se añaden 9,8 g (33,3 milimoles) de H-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-OCH₃ en 50 cc de tetrahydrofurano absoluto y se agita a temperatura ambiente durante 4 horas más. Se
5. concentra en vacío la mezcla reaccional y se recoge en éster acético el residuo. La solución de éster acético se lava por tres veces con ácido clorhídrico 1-n, por dos veces con agua y una vez con solución saturada de cloruro sódico, se seca sobre sulfato sódico y se concentra en vacío. Los 26 g
10. de residuo dan en la recristalización a partir de éster acético/éter de petróleo 15,1 g de N^{α} -cetiloxycarbonil-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-OCH₃, de punto de fusión 93-101° C. La ulterior recristalización aumenta el punto de fusión a 105-106° C; $\alpha_D^{21} = -10,1^{\circ}$ (c = 1,0 en metanol).
15. N^{α} -cetiloxycarbonil-L-lys-L-lys-OCH₃ . 2HCl

- 15,1 g (18,2 milimoles) de N^{α} -cetiloxycarbonil-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-OCH₃ se hidrogenolizan en 200 cc de ácido acético glacial con 3,5 g de carbón paladiado al 5 %. Después de absorbidos 930 cc de hidrógeno no se absorbe ya
25. más hidrógeno y se procede a filtrar la mezcla. Después de concentrar en vacío, queda un residuo soluble en agua, que es disuelto en 22 cc de ácido clorhídrico 2,3-n/metanol y



292441

a continuación concentrado hasta sequedad. El residuo sólido da, después de la segunda cristalización, 6,9 g de N^{α} -cetiloxycarbonil-L-lys-L-lys-OCH₃ · 2HCl, de punto de fusión 190-192° C; $[\alpha]_D^{24} = -13,3^{\circ}$ (c = 0,99 en metanol).

5. El N^{α} -cetiloxycarbonil-(N^ε-Z)-L-lys-OH empleado como material de partida puede obtenerse así: se disuelven en 1000 cc de benceno 121 g (0,5 moles) de alcohol cetílico. Agitando, se destila benceno hasta que ya no pasa más agua. Luego se baja la temperatura a 55-60°C y se introducen por destilación 70 cc (99 g = 1 mol) de fosgeno condensado, lo que dura unas 6 horas. Luego se separa por destilación la mitad del benceno al mismo tiempo que se sopla sobre la solución una ligera corriente de nitrógeno. El residuo, exento de fosgeno y de ácido clorhídrico, se libera todavía en vacío del benceno, por completo, y se obtienen así unos 150 g de cloruro de cetiloxycarbonilo.

10. 28,0 g (0,1 mol) de (N^ε-Z)-L-lys-OH finamente pulverizado se añaden a 120 cc de lejía sódica 1-n y 50 cc de acetona y a esta mezcla se agregan a gotas, a unos 5°C y agitando, simultáneamente 30,5 g (0,1 mol) de cloruro de cetiloxycarbonilo y 100 cc de lejía sódica 1-n, lo que dura unos 35 minutos. Se agita la mezcla durante 20 minutos todavía y luego se la acidifica a reacción congo con ácido clorhídrico 3-n y se la extrae dos veces con éster acético. El extracto de éster acético se lava dos veces con ácido clorhídrico 1-n, dos veces con agua y una vez con solución saturada de cloruro sódico, se seca sobre sulfato sódico y se
- 15.
- 20.
- 25.



292441

- concentra en vacío. Del hexano cristalizan 41,7 g de un material que contiene todavía algo de alcohol cetílico y presenta un punto de fusión de 55-68°C. La recristalización en éter/éter de petróleo proporciona N^α-cetiloxycarbonil-
5. (N^ε-Z)-L-lys-OH, de punto de fusión 59-69°C; $[\alpha]_D^{21} = +11,6^\circ$ (c = 0,96 en cloroformo).

E J E M P L O 2

N^α-octiloxycarbonil-(N^δ-Z)-L-orn-NH-NH₂

- 31,7 g (0,1 mol) de (N^δ-Z)-L-orn-OCH₃ . HCl finalmente pulverizado se suspenden en 300 cc de benceno y se liberan del agua azeotrópicamente. Luego, en reflujo y agitando, se introduce fosgeno hasta que todo se halla en solución (al cabo de unas 5 horas). A continuación se destilan en corriente de nitrógeno los 2/3 del benceno y se concentra el residuo en vacío. Se obtienen 26,4 g de carbonil-
10. (N^δ-Z)-L-orn-OCH₃ (éster metílico del ácido alfa-isocianato-delta-carbobenzoxiamino-valeriánico) en forma oleosa.
- 15.

- De 400 cc de benceno se separan por destilación 100 cc y al residuo se añaden 15,1 cc (96 milimoles) de n-octanol. Luego, agitando y a 2°C, se instilan 26,4 g (86 milimoles) de carbonil-(N^δ-Z)-L-orn-OCH₃ en 50 cc de benceno absoluto y a continuación se deja reposar a temperatura ambiente durante 16 horas. Después de evaporar en vacío, quedan 38,8 g de N^α-octiloxycarbonil-(N^δ-Z)-L-orn-OCH₃ en forma
- 20.



292441

de aceite incoloro, que no cristaliza.

Se disuelve este aceite en 200 cc de metanol y se la mezcla con 8,5 cc (175 milimoles) de hidrato de hidrazina. Se deja reposar la mezcla a temperatura ambiente durante 20 horas y luego se la concentra en vacío. El residuo se recrystaliza en alcohol/agua. Se obtienen 32,2 g de N^{α} -octiloxicarbonil-(N^{ζ} -Z)-L-orn-NH-NH₂, de punto de fusión 110-120°C; $[\alpha]_D^{25} = -7,23^{\circ}$ (1,03 en metanol).

N^{α} -octiloxicarbonil-(N^{ζ} -Z)-L-orn-(N^{ζ} -Z)-L-orn-OCH₃

- 31,6 g (72,3 milimoles) de la hidrazida obtenida
10. se deslíen en 200 cc de ácido clorhídrico 2-n y 200 cc de ácido acético y se disuelven con 15 cc de ácido acético glacial. Luego se instila, a 5°C y agitando, solución de nitrato sódico al 50% hasta que un papel de almidón y yoduro de potasio no se decolora en 5 minutos (unos 10 cc). A continuación se separa la fase acuosa. La fase orgánica se lava con agua helada y dos veces con solución al 10% de hidrocarbonato potásico y con hielo, se filtra, se seca sobre sulfato sódico y se añade a una solución de 20,5 g (72,3 milimoles) de H-(N^{ζ} -Z)-L-orn-OCH₃. Se deja reposar la mezcla
15. durante 18 horas a temperatura ambiente, se la lava dos veces con ácido clorhídrico 3-n, dos veces con agua y una vez con solución saturada de cloruro sódico, se la seca y se la concentra en vacío. El residuo sólido se recrystaliza en benceno/éter de petróleo. Se obtienen 30 g (61%) de N^{α} -octil-
- 20.



292441

oxi-carbonil-(N^δ-Z)-L-orn-(N^δ-Z)-L-orn-OCH₃, de punto de fusión 83-93° C; $[\alpha]_D^{26} = -6,55$ (0,99 en metanol).

N^α-octiloxicarbonil-L-orn-L-orn-OCH₃ · 2HCl

5. 27,9 g (40,8 milimoles) de N^α-octiloxicarbonil-(N^δ-Z)-L-orn-(N^δ-Z)-L-orn-OCH₃ se hidrogenolizan en 200 cc de ácido acético glacial con 5 g de carbón paladiado al 10%. Después de absorbidos 2,1 litros de hidrógeno cesa la hidrogenación. Entonces se filtra la mezcla y se concentra en vacío el filtrado. El residuo se disuelve en 100 cc de ácido clorhídrico metanólico 2-n y se vuelve a concentrar la solución en vacío. Después de recrystalizar en metanol/éter se obtienen 9,2 g de N^α-octiloxicarbonil-L-orn-L-orn-OCH₃ · 2HCl, de punto de fusión 206-211°C (descomposición); $[\alpha]_D^{26} = 16,8°$ (0,99 en metanol).
- 10.

15. E J E M P L O 3

N^α-lauriloxicarbonil-(N^δ-Z)-D-dab-OH

- Se disuelven en 250 cc de benceno 28,7 g (0,154 moles) de alcohol láurico y se exige el agua por destilación azeotrópica. Luego se introducen por destilación, a 60°C y agitando, 21,2 cc (0,3 moles) de fosgeno licuefacto, y a continuación se agita la mezcla durante 4 horas todavía, a la misma temperatura. Se destila en corriente de nitrógeno
- 20.



252441

la mitad del benceno, para eliminar el exceso de fosgeno y de ácido clorhídrico, y por último se concentra el residuo en vacío hasta constancia de peso. Se obtienen 36,2 g de cloruro de lauriloxicarbonilo, en forma de residuo oleoso, que no se depura ulteriormente.

5.

36,6 g (145 milimoles) de H-(N^Y-Z)-D-dab-OH, disueltos en 160 cc de lejía sódica y 50 cc de acetona,

se mezclan gota a gota, agitando y a unos 5°C, simultáneamente con 36,2 g (145 milimoles) de cloruro de lauriloxi-

10.

carbonilo y 145 cc de lejía sódica 1-n (dura unos 35 minutos). Se agita la mezcla durante 30 minutos más y luego se la acidifica con ácido clorhídrico 3-n y se la extrae dos veces con éster acético. La solución de éster acético se

lava por dos veces con ácido clorhídrico 1-n y por dos veces

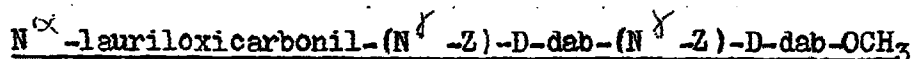
15.

con agua, se seca sobre sulfato sódico y por último se concentra en vacío. El residuo de la concentración cristaliza al malaxarlo con un poco de agua y es recrystalizado en hexano.

Se obtienen 53,5 g de N^X-lauriloxicarbonil-(N^Y-Z)-D-dab-OH, de punto de fusión 69-72°C; $[\alpha]_D^{24} = +7,88^\circ$ (1,00 en me-

20.

tanol).



23 g (76 milimoles) de H-(N^Y-Z)-D-dab-OCH₃ finamente pulverizado se suspenden en 50 cc de cloroformo, se

mezclan con 11,2 cc (76 milimoles) de trietilamina, se sacuden

25.

energicamente y se mezclan con 200 cc de éter. Se man-



292441

tiene esta mezcla 20 minutos en baño de hielo y luego se separa, filtrando por succión, el cloruro de trietilamonio precipitado.

5. En 150 cc de tetrahidrofurano absoluto se disuelven 35 g (76 milimoles) de N^{α} -lauriloxicarbonil-(N^{δ} -Z)-D-dab-OH, se enfría esta solución hasta 5-10°C y se le añaden, agitando, 13 g (76 milimoles) de carbonildiimidazol al 95%. Al cabo de 30 minutos de agitación se agrega la solución obtenida según el párrafo anterior y se deja reposar la mezcla durante 4 horas a temperatura ambiente. Después de concentrar en vacío, se recoge el residuo en éster acético y se lava la solución de éster acético tres veces con ácido clorhídrico 1-n y una vez con agua (añadiendo un poco de metanol para mejor separación de las fases). Luego se seca sobre sulfato sódico y se concentra en vacío. Con la cristalización en cloroformo/éter de petróleo se obtienen 18,9 g de N^{α} -lauriloxicarbonil-(N^{δ} -Z)-D-dab-(N^{δ} -Z)-D-dab-OCH₃, de punto de fusión 107-109°C; $[\alpha]_D^{24} = +18,7^{\circ}$ (0,99 en metanol).
- 10.
15. N^{α} -lauriloxicarbonil-D-dab-D-dab-OCH₃ . 2HCl

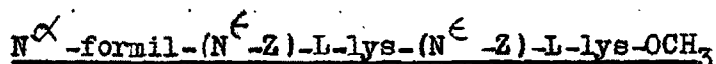
20. 17,5 g (24,5 milimoles) de N^{α} -lauriloxicarbonil-(N^{δ} -Z)-D-dab-(N^{δ} -Z)-D-dab-OCH₃ se disuelven en 200 cc de ácido acético glacial mediante ligero calentamiento y se hidrogenolizan, en presencia de 5 g de carbón paladiado al 5 %, hasta que, una vez absorbidos 1,2 litros de hidrógeno,
- 25.



292441

5. cesa la hidrogenación. Se separa el catalizador por filtración, se concentra el filtrado en vacío, se agregan al residuo oleoso 60 cc de ácido clorhídrico metanólico 2-n y se vuelve a concentrar. En metanol/éter cristalizan 8,1 g de N^{α} -lauriloxycarbonil-D-dab-D-dab-OCH₃. 2HCl cromatográficamente puro, con punto de fusión 188-194°C; $[\alpha]_D^{25} = +17,4^{\circ}$ (1,00 en metanol).

E J E M P L O 4



10. 26,3 g de N^{α} -formil-(N^ε-Z)-L-lys-OH (J. Amer. chem. Soc. 82, 3727, 1960) se disuelven en 150 cc de tetrahidrofurano absoluto y se mezclan, a -10°C y agitando, con 13,8 g de carbonildiimidazol. Al cabo de 30 minutos se añade una solución de H-(N^ε-Z)-L-lys-OCH₃ (liberado con
15. trietilemina a partir de 28 g de clorhidrato) en 50 cc de tetrahidrofurano y se prosigue la agitación durante 4 horas todavía, a temperatura ambiente. Se concentra la mezcla en vacío, se recoge el residuo en éster acético y se lava la solución de éster acético con solución 1-molar de ácido
20. tartárico, helada, con agua helada, con solución al 10% de hidrocarbonato potásico y con solución saturada de cloruro sódico. Luego se seca la solución de éster acético sobre sulfato sódico y se la concentra en vacío. Recrista-



292441

lizado de acetona/éter, el N^{α} -formil-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-OCH₃ funde a 147-149°C; $[\alpha]_D^{22} = -16,9^{\circ}$ (c = 1,0 en metanol).

Desformilación del N^{α} -formil-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-OCH₃

5. Se disuelven 40 g de N^{α} -formil-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-OCH₃ en 150 cc de metanol, se enfría la solución hasta temperatura ambiente, se la mezcla con unos 300 cc de gas clorhídrico/metanol (4-n) y se la deja en reposo durante 6 horas. Luego se concentra la solución a 40°C, se disuelve el residuo en metanol y se vuelve a concentrar la solución. Se repite esta operación por tres veces todavía y se obtiene, por último, un producto bruto oleoso, que pasa directamente a la ulterior elaboración.
- 10.

N^{α} -miristiloxicarbonil-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-OCH₃

15. 40,5 g del producto bruto obtenido antes se disuelven en unos 200 cc de tetrahidrofurano y, para poner la base en libertad, se mezclan con 22 cc de trietilamina. Después de breve enfriamiento, se aspira para separar del clorhidrato de trietilamina precipitado. Se vuelve a mezclar el filtrado con 22 cc de trietilamina y se enfría hasta -10°C.
20. Agitando, se instila una solución de 18,7 g de cloruro de miristiloxicarbonilo en 20 cc de tetrahidrofurano y, después de proseguir la agitación a unos 0°C, se concentra la mezcla reaccional bajo presión reducida, se recoge el



292441

residuo en éter acético y se le lava con ácido clorhídrico 0,1-n. La solución de éster acético, una vez secada, se concentra, con lo que se precipita el N^{α} -miristiloxicarbonil-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-OCH₃. Después de recristalización en éster acético, esta substancia funde a 110-113°C.

5.

N^{α} -miristiloxicarbonil-L-lys-L-lys-OCH₃

16 g del N^{α} -miristiloxicarbonil-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-(N^{ϵ} -Z)-L-lys-OCH₃ obtenido se disuelven en 200 cc de ácido acético glacial y se hidrogenan con unos 2 g de carbón paladiado, reemplazando una vez el catalizador para lograr una hidrogenación completa. Luego se elimina el éster acético bajo presión reducida y, para transformar el acetato en clorhidrato, se mezcla el residuo con ácido clorhídrico/-metanol. Se obtiene N^{α} -miristiloxicarbonil-L-lys-L-lys-OCH₃.

10.

15.

2HCl, de punto de fusión 171-173°C (en metanol/éter); α_D^{21}
= 16° (c = 1 en agua).

E J E M P L O 5

Los productos del procedimiento pueden ponerse en forma de soluciones acuosas, tinturas o pomadas de la

20.

manera, por ejemplo, que a continuación se expone:



292441

- a) Solución al 0,1 ó 1%:
- | | |
|----------------|--------------|
| Materia activa | 0,1 ó 1 g |
| agua destilada | hasta 100 cc |
- b) Tintura en etanol:
- | | |
|------------------|--------------|
| Materia activa | 1 g |
| agua destilada | 2 g |
| etanol (al 94 %) | hasta 100 cc |
- c) Pomada mucilaginoso:
- | | |
|----------------|--------------|
| Materia activa | 0,1 g |
| Methocel 4000 | 1,2 g |
| agua destilada | hasta 100 cc |

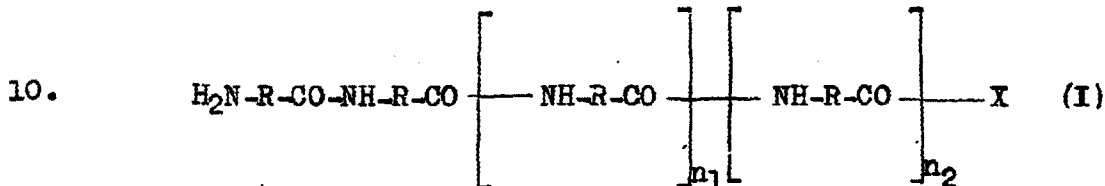


292441

REIVINDICACIONES

Descrito el objeto del presente invento, se declaran nuevas las siguientes reivindicaciones, con prioridad de la solicitud de patente suiza n° 12007/62 del 12 de Octubre de 1962.

- 5. 1. Mejoras en el objeto de la patente principal n° 277.858, por un procedimiento para la fabricación de péptidos, de la fórmula general



en la que

n_1 y n_2 representan 0 ó 1,

X representa un grupo hidroxilo, alcoxi, amino, monoalquilamino, dialquilamino o hidrazino y los símbolos

R significan cada uno un radical, exento del grupo alfa-amino y del grupo carboxilo, de un ácido alfa-aminocarboxílico, conteniendo

- 10. uno por lo menos de los radicales R un grupo amino y llevando uno por lo menos de los

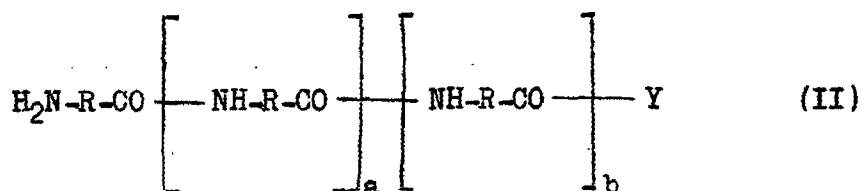


292441

grupos amino de la molécula un radical
alcoxicarbonilo o alqueniloxicarbonilo de
cadena larga,

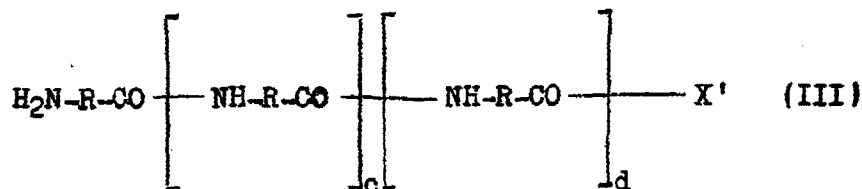
y sales de adición de ácido de estos compuestos, caracteri-
zadas por hacerse reaccionar un compuesto de la fórmula ge-
neral

5.



10.

con un compuesto de la fórmula general



15. donde

a, b, c y d representan 0 ó 1 y la suma de estos índices
es 0, 1 ó 2,

Y significa un átomo de halógeno, un grupo
hidroxi o azido, un grupo fenoxi, eventual-
mente nitrado, un grupo fenilmercapto o el
radical de un anhídrido con un ácido inor-

20.



292441

génico u orgánico,

X' significa un grupo alcoxi, amino, monoalquil-amino, dialquilamino o hidroxí en forma de una sal con una base orgánica terciaria o inorgánica y los símbolos

5.

R significan cada uno un radical, exento del grupo alfa-amino y del grupo carboxilo, de un ácido alfa-aminocarboxílico, conteniendo uno por lo menos de los radicales R un grupo

10.

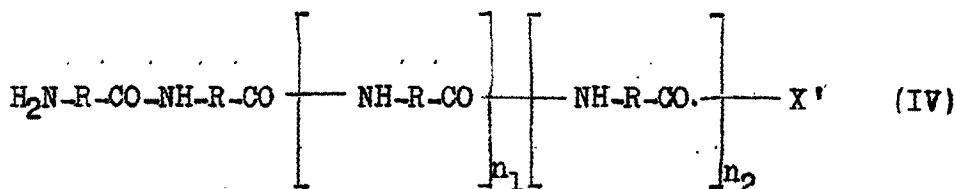
amino y estando además todos los grupos amino existentes en los compuestos II y III, con excepción del grupo alfa-amino que en la fórmula III está situado en el extremo izquierdo de la cadena, resguardados por grupos

15.

protectores disociables y/o radicales alcoxi-carbonilo o alqueniloxicarbonilo de cadena larga,

con disociación de HY, para formar un dipéptido, tripéptido o tetrapéptido de la fórmula general

20.





292441

en que R, X', n_1 y n_2 significan lo mismo que antes y todos los grupos amino presentes en la molécula están protegidos tal como se ha indicado antes,

5. por convertirse los péptidos obtenidos, que no contienen en ningún grupo amino radicales alcóxicarbonilo o alquenciloxi-carbonilo de cadena larga, mediante cambio de grupos protec-tores dissociables selectivamente por uno a lo menos de tales radicales, en los correspondientes péptidos substituidos por grupos N-alcóxicarbonilo o alquenciloxicarbonilo de cadena
10. larga; por convertirse eventualmente el producto obtenido en una hidrazida, y por disociarse del péptido así obtenido los grupos protectores dissociables y, eventualmente, conver-tirse los compuestos obtenidos en sales de adición de ácido.

15. 2. Mejoras según la reivindicación 1, carac-terizadas por emplearse compuestos de partida de las fórmulas II y III que se derivan respectivamente de un ácido alfa,ome-ga-diaminocarboxílico, en particular de la lisina.

20. 3. Mejoras según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizadas por el hecho de que los radicales alcóxicarbonilo o alquenciloxicarbonilo de cadena larga en la cadena de hidrocarburo contienen por lo menos 8 átomos de carbono.

4. Mejoras según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizadas por el hecho de que los radicales



292441

alcoxicarbonilo o alqueniloxicarbonilo de cadena larga en la cadena de hidrocarburo contienen por lo menos 8 a 20 átomos de carbono.

5. Mejoras según una de las reivindicaciones anteriores, caracterizadas por emplearse compuestos de partida de las fórmulas II y III que se derivan de ácidos aminocarboxílicos ópticamente activos, y en particular de los de configuración L.

10. 6. Mejoras en el objeto de la patente principal nº 277.858, por un procedimiento para la fabricación de péptidos.

Según se describe y reivindica en la presente memoria descriptiva que consta de 28 páginas foliadas y escritas a máquina por una sola cara.

15. Madrid, a 11 Octubre 1963

F. HOFFMANN-LA ROCHE Y CIE. S.A.

p.a.

JANIS BERN MIRALLES

R.R.