

(19)



(10) **LT 3826 B**

(12)

PATENTO APRAŠYMAS

(11) Patent numeris: **3826**

(51) Int. Cl.⁵: **C07C 143/80**

(21) Paraiškos numeris: **IP1745**

(22) Paraiškos padavimo data: **1993 12 30**

(41) Paraiškos paskelbimo data: **1995 07 25**

(45) Patent paskelbimo data: **1996 03 25**

(60) SU duomenys: **SU 4854375, 1990 07 20**

(72) Išradėjas:

Algirdas Palaima, LT
Saulius Butėnas, LT
Andrej Nedospasov, RU

(73) Patent savininkas:

Biochemijos institutas, Mokslininkų g. 12, 2600 Vilnius, LT

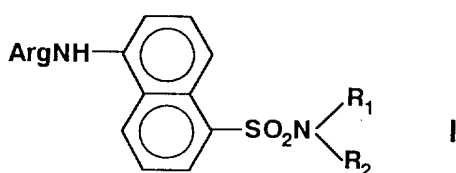
(54) Pavadinimas:

5-Arginilaminonaftalen-1-sulfamidų gavimo būdas

(57) Referatas:

Išradimas skirtas arginilo darinių, turinčių įvairius aminonaftalensulfamidus, gavimo būdo patobulinimui. Minėti junginiai pritaikomi biotechnologijoje, kaip chromo- ir fluorogeniniai substratai proteazių fermentinio aktyvumo nustatymui nauju analizės metodu (ANSA). Žinomais būdais medžiagos gaunamos šiurkščiomis sąlygomis, naudojant daug tarpinių stadijų, toksinius reagentus, pvz., dicikloheksilkarbodiimidą, susidarant pašaliniam produktui benzilo bromidui, galutinio produkto išeiga siekia 35-40 %. Siekiant padidinti išeigą ir supaprastinti procesą, sumažinant tarpinių stadijų skaičių, atsisakant toksinių reagentų naudojimo, pašalinį produktų susidarymo, siūlomas procesas vykdomas kondensuojant N^α-tret.butiloksikarbonilarginino hidrokloridą su 5-aminonaftalen-1-pentametilensulfamidu (arba kitu pavaduotu amidu) dimetilformamide ir piridine, esant di-tret.butilpirokarbonatui ir, neišskyrinėjant N^α-pavaduoto produkto, reakcijos mišinys veikiamas trifluoracto rūgštimi metileno chloride, po to NaHCO₃. Išeiga 62-84%.

Išradimas skirtas bioorganinei chemijai, arginilo darinių turinčių aminonaftalensulfamidų, kurių bendra formulė:

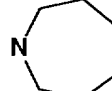


Arg — arginino liekana

kai $R_1 = H, R_2 = CH_3, C_2H_5, C_3H_7, i-C_3H_7,$

$C_4H_9, i-C_4H_9, C_5H_{11},$ ,

arba $R_1=R_2=CH_3, C_2H_5,$

arba $NR_1R_2 =$ , , 

gavimo būdo patobulinimui. Aprašomi junginiai pritaikomi biotechnologijoje kaip chromo- ir fluorogeniniai substratai proteazių fermentinio aktyvumo nustatymui ir jų sudėtingų mišinių analizei, taip pat jie gali būti panaudoti kitų junginių sintezei, pritaikomų tokiais pat tikslais /Buv. SU autorinis liud. Nr. 1822563 pagal paraišką Nr. 4019225/.

Žinomas 5-arginilaminonaftalen-1-pentametilsulfamidų gavimo būdas susidedantis iš: N^α -karbobenzoksiarginino hidrochlorido, N-hidroksibenzotriazolo (OBT) mišinio dimetilformamide (DMF) ir 5-aminonaftalensulfamido bromhidrato kondensacijos, dalyvaujant dicikloheksilkarbodiimidui ir trietilaminui, susidariusios N^α -pavaduotos arginil-ANSA (aminonaftalensulfamido liekana) HBr druskos suskaidymo, karbobenzoksi grupės nuėmimo, naudojant vandenilio bromidą ledinėje acto rūgštyje, susidariusios arginil-ANSA HBr druskos išvalymo, suskaidymo ir galutinių produktų išskyrimo laisvų bazių pavidale 40% išeiga /Биоорганическая химия, 1989, 15, No 4, p. 444-451/.

Būdo trūkumas tas, kad galutinis produktas gaunamas vykdant daug tarpinių stadijų ir maža išeiga, naudojamas stiprus alergenai dicikloheksilkarbodiimidas ir pramonėje negaminamas reagentas - vandenilio bromidas ledinėje acto rūgštyje. Proceso metu susidaro pašalinis produktas, sunkiai utilizuojamas lakrimatorius - benzilo bromidas (5-aminonaftalensulfamidus ardo stipri rūgštis HBr/ CH_3COOH). Taip pat netikslinga galutinius produktus išskyrinėti hidrobromido druskų pavidale, dėl HBr

reaktingumo jos nepatogios naudoti tolesnėse reakcijose (HBr gali redukuoti sulfamidinę grupę, o susidaręs Br_2 - oksiduoti kitas labilias grupes). Laisvos bazės - nepatogios tais atvejais, kai reikia ilgai laikyti medžiagas (dėl nestabilumo). Visi suminėti faktoriai rodo, kad gaunami šiuo būdu aminonaftalensulfamidai ir substratai jų pagrindu yra nepatogūs norint naudoti medžiagas pramoniniais kiekiais.

Išradimo tikslas - išeigos padidinimas ir proceso supaprastinimas.

Tikslas pasiekiamas acilinant N^α -pavaduoto arginino hidrochloridą su atitinkamu 5-aminonaftalen-1-sulfamidu organiniame tirpiklyje, esant kondensavimo reagentui, po to nuskeliant blokuojančią grupę ir išskiriant galutinį produktą. N-pavaduoto arginino hidrochloridu naudoja N^α -tret.butiloksikarbonilarginino hidrochloridą, laisva baze yra 5-aminonaftalen-1-sulfamidas, tirpikliais naudojami dimetilformamidas ir piridinas, kondensavimo reagentu - di-tret.butilpirokarbonatas, blokuojanti grupė nuskeliama trifluoracto rūgšties tirpalu metileno chloride. Siūlomame būde naudojamas N^α -tret.butiloksikarbonilarginino ir di-tret.butilpirokarbonato molinis santykis ne mažesnis kaip 1:1,8.

Išradime siūlomas būdas skiriasi sąlygomis, apsprendžiančiomis galutinio produkto gavimo procesą, būtent, naudojamos atitinkamos išeiginės medžiagos ir reagentai.

Pasiūlytų technologinių operacijų visuma sudaro prielaidas gauti švaresnius tarpinius produktus, nebūtinus jų išskyrimas ir galutinio produkto valymas chromatografiškai, dėl to supaprastėja procesas, padidėja galutinių produktų išeiga (62-84%). Galimas tiesioginis produktų gavimas HCl druskų pavidale, kurios esant reikalui gali būti suskaldomos iki laisvų bazių.

1 Pavyzdys. 5-Arginilaminonaftalen-1-pentametilensulfamidas.

Į 3,2 g (10 mmolio) N^α -tret.butiloksikarbonilarginino hidrochlorido tirpalą 10 ml sauso dimetilformamido (DMFA) ir 0,8 ml sauso piridino pridedama 2,7 ml (12 mmolio) di-tret.butilpirokarbonato 10°C temperatūroje ir maišoma 1 valandą. Po to dalimis, 40 min. intervale, sudedamas 3,2 g (11 mmolio) 5-aminonaftalen-1-pentametilensulfamidas. Maišoma 3 val. 20°C temperatūroje, po to dar pridedama 1,3 ml (6 mmolio) di-tret.butilpirokarbonato ir maišoma 16 val. Reakcijos mišinys išpilamas į 100 ml sauso eterio, maišoma 10 min., eteris dekantuojamas, alyvinė liekana užpilama

50 ml trifluoracto rūgšties - metileno chlorido mišiniu (1:1). Reakcijos mišinys maišomas 1 val. 20°C temperatūroje, kondensuojamas iki 10 ml ir užpilama 100 ml sauso eterio. Susidaręs produktas nufiltruojamas, džiovinamas vakuuminiame eksikatoriuje, ištirpinamas 20 ml vandens, nufiltruojamas nesureagavęs aminonaftalinsulfamidas.

Vandens tirpalas ekstrahuojamas 80 ml n-butanolio, organinis sluoksnis atskiriamas, praplaunamas 5% vandeniniu NaHCO_3 iki vandens sluoksnio pH 7-8, po to vandeniui (du kartus po 10 ml). Tirpiklis nugarinamas vakuume, alyvingos nuosėdos ištirpinamos eteriu, susidariusios kristalinės nuosėdos filtruojamos ir džiovinamos. Gaunama 2,80 g (62%) chromatografiškai ir analitiškai švaraus produkto. Lyd.t. 138-143 °C, $R_f=0,41$ (butanolis - CH_3COOH - vanduo 4:1:2), $[\alpha]_D^{20} +6,9$ (Cl, CH_3OH).

Rasta: C 56,24 H 6,77 N 18,85 S 6,54. $\text{C}_{12}\text{H}_{30}\text{N}_6\text{SO}_3$.

Apskaičiuota: C 56,48 H 6,77 N 18,85 S 7,18.

Analogiškai gaunami kiti I formulės junginiai, išeigos ir lydymosi temperatūros yra 1 lentelėje, o elementinės analizės duomenys 2 lentelėje.

2 Pavyzdys. 5-Arginilaminonaftalen-1-pentametilensulfamido dihidrochloridas.

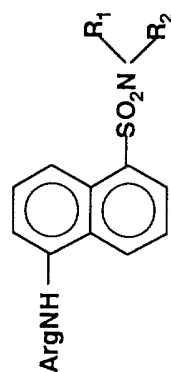
Iki neutralizacijos stadijos dirbama pagal 1 pavyzdyje aprašytą metodiką, po neutralizavimo naudojant NaHCO_3 ir po plovimo mišinys koncentruojamas iki 15 ml tūrio ir prisotinamas sausu HCl. Toliau produktas išskyrinėjamas pagal 1 pavyzdyje aprašytą metodiką. Išeiga 2,96 g (57%). Lyd.t. 141-145 °C, $R_f=0,40$ (ta pati sistema), $[\alpha]_D^{20} +6,3$ (Cl; CH_3OH). BMR (DMSO) δ , m.d.: 1,38 (CH_2); 3,06 (CH_2).

Analogiškai gaunami kiti dihidrochloridai. Jų lydymosi temperatūros ir išeigos yra 1 lentelėje.

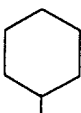
Siūlomu būdu padidinamos galutinių produktų išeigos lyginant su žinomu būdu nuo 40% iki 61-84%, sumažinamas tarpinių stadijų skaičius (nuo 4 iki 2 stadijų), nenaudojami toksiniai reagentai (dicikloheksilkarbodiimidai, vandenilio bromidas ledinėje acto rūgštyje), išvengiama pašalinio produkto - benzilo bromido susidarymo.

5-Arginilaminonaftalen-1-sulfamidų gavimas pagal 1 pavyzdįje

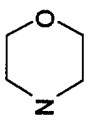
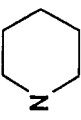
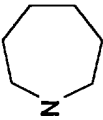
aprašytą metodiką



Sudedama: N^ω-tret.butiloksikarbonilarginino hidrochloridas (3,3 g), kondensavimo reagentas di-tret.butilpirokarbonatas (4 ml) ir piridinas (0,8 ml), dimetilformamidas (10 ml), dalimis sudedama 11 mmol ANSA. Reakcijos laikas 21 val., temperatūra 20 °C.

Eil. Nr.	R ₁	R ₂	Kiekis, (g) ANSA*	Galutinis produktas		Produkto dihidrochloridas**	
				išeiga, g (%)	lyd.t.°C	išeiga, g (%)	lyd.t.°C
1		2	3	4	5	6	7
1.	H	CH ₃	2,6	2,4 (61)	58-66	2,7 (58)	181-190
2.	H	C ₂ H ₅	2,7	2,7 (67)	135-146	3,1 (65)	170-177
3.	H	C ₃ H ₇	2,9	2,4 (58)	alyva	2,7 (54)	157-168
4.	H	CH(CH ₃) ₂	2,9	2,8 (66)	alyva	3,1 (63)	152-166
5.	H	C ₄ H ₉	3,1	2,6 (59)	alyva	2,8 (56)	155-168
6.	H	i-C ₄ H ₉	3,1	2,5 (57)	145-152	2,8 (55)	180-194
7.	H	t-C ₄ H ₉	3,1	2,7 (62)	142-154	2,9 (58)	159-175
8.	H	C ₃ H ₁₁	3,2	2,8 (63)	138-143	3,0 (58)	135-144
9.	H		3,3	3,9 (84)	145-154	4,4 (82)	158-171

1 lentelės tęsinys

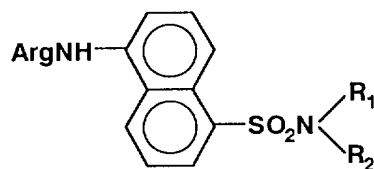
1	2		3	4	5	6	7
10.	CH ₃	CH ₃	2,7	3,4 (83)	113-124	3,8 (80)	165-178
11.	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	3,1	2,3 (54)	164-172	2,6 (52)	135-144
12.			3,2	2,7 (61)	alyva	3,0 (58)	168-182
13.			3,3	2,8 (62)	138-143	3,0 (57)	141-145
14.			3,3	3,2 (70)	136-143	3,6 (67)	155-164

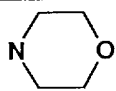
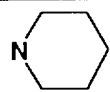
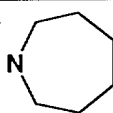
* 5-aminonafalen-1-sulfamidas,

** patvarūs junginiai.

2 lentelė

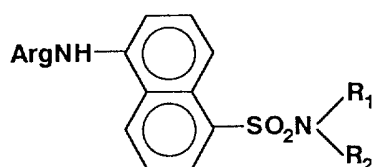
5-Arginilaminonaftalen-1-sulfamidų elementinės analizės duomenys



Eil. Nr.	R ₁	R ₂	Empirinė formulė	Elementinės analizės duomenys			
				Rasta / Apskaičiuota			
				C	H	N	S
1	2	3	4				
1.	H	CH ₃	C ₁₇ H ₂₄ N ₆ SO ₃	<u>52,22</u> 52,03	<u>6,03</u> 6,16	<u>21,18</u> 21,41	<u>7,74</u> 8,14
2.	H	C ₂ H ₅	C ₁₈ H ₂₆ N ₆ SO ₃	<u>53,10</u> 53,18	<u>6,72</u> 6,45	<u>20,49</u> 20,67	<u>7,22</u> 7,89
3.	H	C ₃ H ₇	C ₁₉ H ₂₈ N ₆ SO ₃	<u>53,95</u> 54,27	<u>6,87</u> 6,74	<u>19,84</u> 19,98	<u>6,80</u> 7,62
4.	H	CH(CH ₃) ₂	C ₁₉ H ₂₈ N ₆ SO ₃	<u>54,01</u> 54,27	<u>6,42</u> 6,71	<u>20,31</u> 19,98	<u>7,11</u> 7,62
5.	H	C ₄ H ₉	C ₂₀ H ₃₀ N ₆ SO ₃	<u>55,41</u> 55,28	<u>6,85</u> 6,96	<u>19,48</u> 19,34	<u>6,84</u> 7,38
6.	H	i-C ₄ H ₉	C ₂₀ H ₃₀ N ₆ SO ₃	<u>55,26</u> 55,28	<u>7,00</u> 6,96	<u>19,17</u> 19,34	<u>6,69</u> 7,38
7.	H	t-C ₄ H ₉	C ₂₀ H ₃₀ N ₆ SO ₃	<u>55,07</u> 55,28	<u>7,12</u> 6,96	<u>19,21</u> 19,34	<u>6,53</u> 7,38
8.	H	C ₅ H ₁₁	C ₂₁ H ₃₂ N ₆ SO ₃	<u>56,29</u> 56,23	<u>7,00</u> 7,19	<u>18,84</u> 18,73	<u>7,25</u> 7,15
9.	H		C ₂₂ H ₃₂ N ₆ SO ₃	<u>57,18</u> 57,37	<u>7,14</u> 7,00	<u>18,07</u> 18,25	<u>6,28</u> 6,96
10.	CH ₃	CH ₃	C ₁₈ H ₂₆ N ₆ SO ₃	<u>53,36</u> 53,18	<u>6,64</u> 6,45	<u>20,91</u> 20,67	<u>7,10</u> 7,89
11.	C ₂ H ₅	C ₂ H ₅	C ₂₀ H ₃₀ N ₆ SO ₃	<u>54,93</u> 55,28	<u>6,85</u> 6,96	<u>19,70</u> 10,34	<u>7,61</u> 7,38
12.			C ₂₀ H ₂₈ N ₆ SO ₄	<u>53,72</u> 53,56	<u>6,39</u> 6,29	<u>18,92</u> 18,74	<u>6,89</u> 7,15
13.			C ₂₁ H ₃₀ N ₆ SO ₃	<u>56,24</u> 56,48	<u>6,77</u> 6,77	<u>18,85</u> 18,82	<u>6,54</u> 7,18
14.			C ₂₂ H ₃₂ N ₆ SO ₃	<u>57,61</u> 57,37	<u>6,86</u> 7,00	<u>18,43</u> 18,25	<u>6,54</u> 6,96

IŠRADIMO APIBRĖŽTIS

1. 5-Arginilaminonaftalen-1-sulfamidų, kurių bendra formulė:

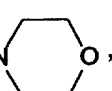
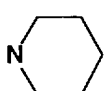
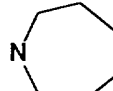


Arg — arginino liekana

kai $R_1 = H, R_2 = CH_3, C_2H_5, C_3H_7, i-C_3H_7,$

$C_4H_9, i-C_4H_9, C_5H_{11},$ ,

arba $R_1=R_2=CH_3, C_2H_5,$

arba $NR_1R_2 =$ , , 

gavimo būdas, susidedantis iš N^α -pavaduoto arginino hidrochlorido sąveikos su atitinkamu 5-aminonaftalensulfamidu organiniame tirpiklyje esant kondensavimo reagentui, tolesnio nuėmimo apsauginės N^α -pavaduotos grupės ir galutinio produkto išskyrimo, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad kaip N -pavaduoto arginino hidrochloridą naudoja N^α -tret.butiloksikarbonilarginino hidrochloridą, kaip laisvą bazę 5-aminonaftalen-1-sulfamidą, kaip tirpiklį naudoja dimetilformamidą ir piridiną, kaip kondensuojantį agentą naudoja di-tret.butilpirokarbonatą, o apsauginę grupę nuima trifluoracto rūgšties tirpalu metileno chloride.

2. Būdas pagal 1 punktą, b e s i s k i r i a n t i s tuo, kad naudojamas N^α -tret.butiloksikarbonilarginino hidrochlorido ir di-tret.butilpirokarbonato molinis santykis ne mažesnis kaip 1:1,8.