



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2010133881/04, 13.08.2010

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
13.08.2010

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 13.08.2010

(45) Опубликовано: 20.12.2011 Бюл. № 35

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: LIU M. et al. *Synthesis of Fmoc-L-Lys(BOC)-OH*, JINGXI HUAGONG ZHONGJIANZI, 2009, 39(5), 26-29 (реферат Chem. Abstrs., ACS on STN, 153: 204599). CN 1532191 A, 29.09.2004 (реферат Chem. Abstrs., ACS on STN, 143: 153699). WIEJAK S. et al. *A Large Scale Synthesis of Mono- and Di-urethane Derivatives of Lysine*, CHEM. PHARM. BULL. 1999, 47(10), 1489-1490. (см. прод.)

Адрес для переписки:

119421, Москва, Ленинский пр-кт, 99, кв.226,
пат.пов. Ю.И. Копырину

(72) Автор(ы):

Назаренко Анна Борисовна (RU),
Балаев Александр Николаевич (RU),
Фёдоров Владимир Егорович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Закрытое акционерное общество "Фарм-Синтез" (RU)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ε-N-ТРЕТ-БУТИЛОКСИКАРБОНИЛ-L-ЛИЗИНА

(57) Реферат:

Изобретение относится к способу получения ε-N-трет-бутилоксикарбонил-L-лизина, который находит применение в синтезе биологически активных пептидов. Способ заключается в получении сначала медного комплекса ε-N-трет-бутилоксикарбонил-L-лизина из гидрохлорида L-лизина и третбутилпирокарбоната в водно-ацетоновом растворе сульфата меди. Далее полученный

медный комплекс без выделения его из реакционной среды обрабатывают при перемешивании водным раствором динатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты и выпавший осадок отделяют фильтрованием. Способ позволяет получать ε-N-трет-бутилоксикарбонил-L-лизин в одну стадию с хорошими выходами за счет упрощения процесса и исключения трудоемкой операции выделения медного комплекса.

(56) (продолжение):

SCOTT J.W. et al. *Improved syntheses of N-(tert-butyloxycarbonyl)-L-lysine and N-(benzyloxycarbonyl)-N-(tert-butyloxycarbonyl)-L-lysine*, SYNTH. COMMUN., 1981, 11(4), 303-314. GB 957892, 13.05.1964.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C07C 271/22 (2006.01)
C07C 269/04 (2006.01)

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21)(22) Application: **2010133881/04, 13.08.2010**

(24) Effective date for property rights:
13.08.2010

Priority:

(22) Date of filing: **13.08.2010**

(45) Date of publication: **20.12.2011 Bull. 35**

Mail address:

**119421, Moskva, Leninskij pr-kt, 99, kv.226,
pat.pov. Ju.I. Kopyrinu**

(72) Inventor(s):

**Nazarenko Anna Borisovna (RU),
Balaev Aleksandr Nikolaevich (RU),
Fedorov Vladimir Egorovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Zakrytoe aktsionernoe obshchestvo "Farm-Sintez"
(RU)**

(54) METHOD OF PRODUCING ϵ -N-TERTBUTYLOXYCARBONYL-L-LYSINE

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: method involves obtaining a copper complex of ϵ -N-tertbutyloxycarbonyl-L-lysine first from L-lysine hydrochloride and tertbutylpyrocarbonate in a water-acetone solution of copper sulphate. Further, without extraction from the reaction medium and while stirring, the obtained copper complex is treated with aqueous solution of a

disodium salt of ethylene diamine tetraacetic acid and the precipitate is separated by filtering.

EFFECT: method enables to obtain ϵ -N-tertbutyloxycarbonyl-L-lysine in a single step with good output owing to simplification of the process and excluding the cumbersome operation of extracting the copper complex.

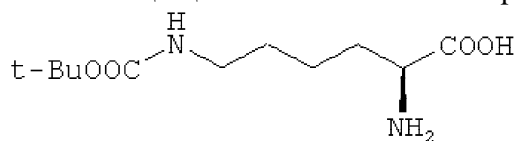
2 ex

R U 2 4 3 6 7 6 9 C 1

R U 2 4 3 6 7 6 9 C 1

Изобретение относится к пептидной химии, в частности к получению защищенной α , ω -диаминокислоты, такой как лизин в виде производного трет-бутоксикарбонилла, а также, следовательно, и к фармацевтической химии.

Эта защищенная аминокислота формулы



10 является важным полупродуктом синтеза многих биологически активных пептидов, в частности тетрапептида тафцина, обладающего иммуностимулирующей активностью [1], и октреотида синтетического аналога соматостатина [2].

15 Известно, что наиболее успешный подход к синтезу ϵ -N-трет-бутилоксикарбонил-L-лизина основан на получении соответствующего медного комплекса L-лизина, с последующим бокированием концевой аминогруппы и разрушением полученного медного комплекса ϵ -N-трет-бутилоксикарбонил-L-лизина. В промежуточном медном комплексе α -аминогруппа L-лизина находится в связанном состоянии, что позволяет селективно провести бокирование в нужном направлении.

20 Для получения медного комплекса L-лизина обычно используют основной карбонат меди $\text{CuCO}_3 \cdot \text{Cu}(\text{OH})_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ [3] либо медный купорос $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ [4], использование последнего более предпочтительно, так как не требуется нагревание реакционной массы. Полученный медный комплекс L-лизина далее обрабатывают трет-бутилпирокарбонатом и выделяют медный комплекс ϵ -N-третбутилоксикарбонил-L-лизина фильтрованием [4]. Недостатком данного метода является очень трудоемкая стадия фильтрации, особенно при проведении реакции в больших объемах, из-за мелкого размера кристаллов полученного вещества, что приводит к быстрому забиванию фильтра.

30 Разрушение медного комплекса осуществляют газообразным сероводородом [5] или тиацетамидом [6]. Использование сероводорода ограничено из-за его высокой токсичности. Кроме того, определенная трудность возникает при отделении образующегося в результате реакции мелкодисперсного сульфида меди. Известны также методы, основанные на связывании ионов меди в более прочный хелатный комплекс. В частности, используют такие хелатообразующие реагенты, как 8-гидроксихинолин [4], тиозолидин-2-тион [7] или ионообменная смола Na^+ Chelex 100 [8]. Применение этих реагентов в данном случае также не желательно из-за их относительно высокой стоимости.

40 Задачей данного изобретения является упрощение процесса получения, исключением токсичных и дорогостоящих реагентов, а также разработка легко масштабируемого способа производства ϵ -N-трет-бутилоксикарбонил-L-лизина.

45 Поставленная техническая задача достигается способом получения ϵ -N-трет-бутилоксикарбонил-L-лизина, заключающимся в получении сначала медного комплекса ϵ -N-трет-бутилоксикарбонил-L-лизина из гидрохлорида L-лизина и третбутилпирокарбоната в водно-ацетоновом растворе сульфата меди и далее без выделения его из реакционной среды полученный медный комплекс обрабатывают при перемешивании водным раствором динатриевой соли этилендиаминтетрауксусной кислоты и отделяют выпавший осадок фильтрованием.

50 Используемая динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты дигидрат используется в виде препарата Трилон Б (водный раствор указанной соли).

Итак, поставленная техническая задача достигается тем, что полученный из

гидрохлорида L-лизина и трет-бутилпиروкарбоната в водном-ацетоновом растворе сульфата меди медный комплекс ϵ -N-трет-бутилоксикарбонил-L-лизина без выделения из реакционной массы обрабатывают водным раствором трилона Б. Таким образом, исключается трудоемкая операция выделения промежуточного медного комплекса, при этом из процесса исключены токсичные и дорогостоящие реагенты. Кроме того, данный способ является легко масштабируемым - выход ϵ -N-трет-бутилоксикарбонил-L-лизина существенно не меняется с увеличением загрузок исходных реагентов.

Бикарбонат натрия, используемый в этом способе, выступает в качестве основания как в случае перевода гидрохлорида аминокислоты в свободную аминокислоту, так и непосредственно в процессе бокирования; что является традиционным для пептидной химии (А.А.Гершкович, В.К.Киберев Синтез пептидов. Реагенты и методы., Киев, Наукова думка, 1987) наряду с такими реагентами, как поташ, гидроксид натрия и др.

Чистота полученного ϵ -N-трет-бутилоксикарбонил-L-лизина подтверждена тонкослойной хроматографией на алюминиевой пластинке НРТLC Silica gel 60 F₂₅₄. Элюент: бутанол/вода/уксусная кислота 2/1/1. Проявление: стандартный раствор нингидрина.

Описываемый способ иллюстрируется следующими примерами, не ограничивающими его.

Экспериментальная часть

Пример 1

В плоскодонной колбе на 500 мл при перемещивании на магнитной мешалке растворяют 18,3 гр (0,1 моль) гидрохлорида лизина в 85 мл воды, затем добавляют 16,8 гр бикарбоната натрия. К полученной суспензии при перемещивании и комнатной температуре приливают раствор 12,4 гр (0,05 моль) медного купороса в 80 мл воды. Реакционную массу перемешивают 30 мин, после чего приливают раствор 29,6 гр (0,13 моль) трет-бутилпирокарбоната в 110 мл ацетона и сразу присыпают 8,4 гр бикарбоната натрия. Полученную массу перемешивают при комнатной температуре 48 часов, разбавляют 60 мл воды и приливают раствор 26 гр (0,07 моль) Трилона Б в 100 мл воды. Перемешивание продолжают в течение суток, фильтруют выпавший осадок на фильтре Шотта и тщательно промывают на фильтре 3 раза по 50 мл этилацетатом. Полученное вещество сушат в вакууме мембранного насоса (15 мм рт.ст.) при 40-50° до постоянного веса. Получают 20,9 гр (84,6%) светло-серого порошка.

ТСХ: Rf (H-Lys-OH HCl)=0.20, Rf (H-Lys(ϵ Вос)-OH)=0.64

PMR (DMSO-d₆, 360.13 MHz): δ 6.71 (с, 1H), 3.10 (т, 1H), 2.88 (т, 2H), 1.50-1.75 (м, 2H), 1.20-1.40 (м, 13H)

Пример 2

В реактор на 50 л с механической мешалкой помещают 8,8 л воды, прибавляют при перемешивании и комнатной температуре 2000 г (10,95 моль) гидрохлорида лизина, затем присыпают 1841 гр бикарбоната натрия. К полученной суспензии приливают порциями 1359,4 гр (5,44 моль) медного купороса в 8,8 л воды. Реакционную массу перемешивают 30 мин, приливают в 1 прием 3240,8 гр (14,85 моль) трет-бутилпирокарбоната в 12 л ацетона, после чего присыпают 920,4 гр бикарбоната натрия. Полученную массу перемешивают при комнатной температуре 48 часов. Темно-синию суспензию разбавляют 6,5 л воды, после чего к ней приливают раствор 2840 г Трилона Б (7,63 моль) в 11 л воды и перемешивают в течение суток при комнатной температуре. Реакционную массу фильтруют через вязь, отжимают, осадок

переносят в емкость, добавляют 5 л этилацетата, перемешивают 5 мин и снова фильтруют и отжимают через вязь. Осадок переносят на фильтр Шотта и промывают 1,5 л этилацетата. Получают 8,4 кг влажного продукта, который сушат на поддоне, периодически измельчая осадок, до постоянного веса. Получают 2368

г (87,8%) светло-серого порошка.

ТСХ: Rf(H-Lys-OH HCl)=0.20, Rf(H-Lys(εBoc)-OH)=0.66
PMR (DMSO-d₆, 360.13 MHz): δ 6.71 (с, 1H), 3.10 (т, 1H), 2.88 (т, 2H), 1.50-1.75 (м, 2H), 1.20-1.40 (м, 13H)

Таким образом, как видно из вышеприведенных примеров, способ по изобретению отличается простотой, отсутствием токсичных реагентов и пригоден для получения целевого продукта с высоким выходом в полупромышленном масштабе.

Источники информации

1. Патент КНР CN 101550180 A2 0091007, Liquid-phase synthesis of phagocytosis-stimulating tetrapeptide tuftsin, 2009.

2. Патент США US 2004039161, C07K00102, 2004.

3. Biochem. J. V.37, p.515 (1943).

4. Chem. Pharm. Bull. V.47, N10, p.1489 (1999).

5. Justus Liebigs Ann. Chem. V.1973, N9, p.1467 (1973).

6. Int. J.Pept Protein Res. V.19, N2, p.158 (1982).

7. Peptides: Biology and Chemistry, Kluwer Academic: Dordrecht, p.33 (2000).

8. Synth. Commun. V.11, N4, p.303 (1981).

Формула изобретения

Способ получения ε-N-трет-бутилоксикарбонил-L-лизина, заключающийся в получении сначала медного комплекса ε-N-трет-бутилоксикарбонил-L-лизина из гидрохлорида L-лизина и трет-бутилпирокарбоната в водно-ацетоновом растворе сульфата меди и далее без выделения его из реакционной среды полученный медный комплекс обрабатывают при перемешивании водным раствором динатриевой соли этилендиамина-тетрауксусной кислоты и отделяют выпавший осадок фильтрованием.