

BÁZISOS JELLEGŰ GLUTAMINSAV - SZÁRMAZÉKOK
SZINTÉZISE

DOKTORI DISSZERTÁCIÓ

Benyújtja

Penke Botond

egyetemi tanársegéd

Készült a JÓZSEF ATTILA TUDOMÁNYEGYETEM
SZERVES KÉMIAI TANSZÉKÉN

Szeged

1965-67.



Diss. B 451



R Ö V I D I T É S E K

Az aminosavak gyökeinek és a peptid kémiában használt helyettesítőknek rövidítései azonosak az ötödik Európai Peptid Szimpóziumon elfogadott jelölésekkel.

Az aminosavak triviális nevének három első betűje olyan gyököt jelöl, amelyben az α -aminocsoporttól egy hidrogén, az α -karboxil csoportról egy hidroxil csoport hiányzik. Tehát a glicin: $\text{H} - \text{Gly} - \text{OH}$.

A további amino és karboxil csoporton lévő helyettesítőt az aminosav gyök rövidítése alá, vagy zárójelben mellé írjuk: $\text{Z} - \underset{\text{OBu}^t}{\text{Glu}} - \text{OBu}^t$ vagy $\text{Z} - \text{Glu}(\text{OBu}^t) - \text{OBu}^t$

A helyettesítők rövidítései:

$\text{PHT} - : \text{ftalil-}$
 $\text{Z} - : \text{benziloxikarbonil- (karbobenzoxi-)}$
 $\text{TOS} - : \text{p. toluolszulfonil- (tozil-)}$
 $\text{Bz} - : \text{benzil-}$
 $\text{Me} - : \text{metil-}$
 $\text{Bu}^t - : \text{terc. butil-}$

A dolgozatban használt egyéb rövidítések:

$\text{DCG} : \text{diciklohexil-karbodiimid}$
 $\text{DCU} : \text{diciklohexil-karbamid}$
 $\text{VA} : \text{vegyes anhidrid}$
 $\text{NEt}_3 : \text{triethylamin}$

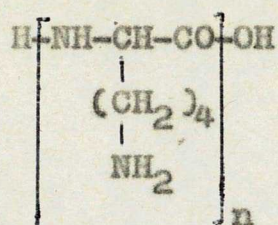
A legegyszerűbb aminosav-származékok előállítására vonatkozó irodalmat nem idéztem az egyes vegyületeknél, ezek két összefoglaló munkában is megtalálhatók:

I.P. Greenstein, M. Winitz: "Chemistry of the Amino Acids," Wiley, New York 1960.

E. Schröder, K. Lübke: "The Peptides" I. és II. Acad. Press. New York, 1965 és 1966.

B E V E Z E T É S

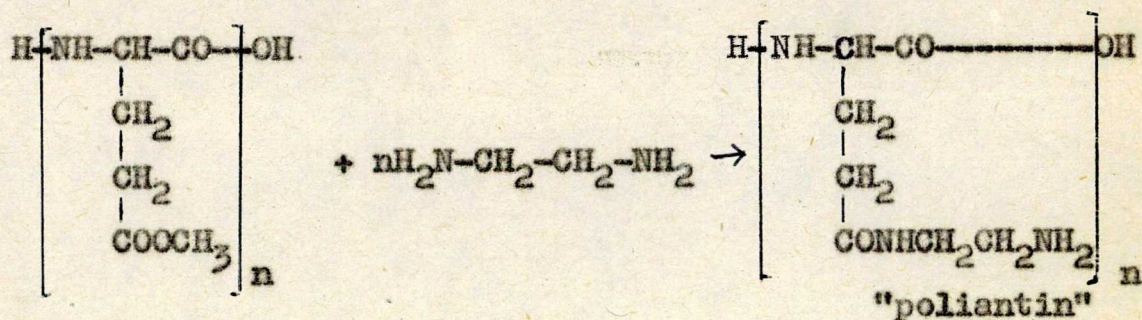
Az Eötvös Loránd Tudományegyetem Szerves Kémiai Tanszékén már évek óta kutatják a peptidvázas polibázisok tulajdonságait és farmakológiai hatását. Ezeket a kutatásokat az indokolja, hogy a bázisos fehérjék és egyes természetes eredetű bázisos polipeptidek bakteriosztatikus és virosztatikus hatásuk. Ilyen hatást mutatnak pl. az erősen bázisos protaminok. Az antibiotikumok közé tartozó polimixinek szintén analóg szerkezetűek. Katschalski (1) feltételezte először (poli-L-lizinnel végzett kutatásai alapján), hogy e hatások a poli-funkciós, polibázisos szerkezethez kapcsolódnak. A poli-L-lizin



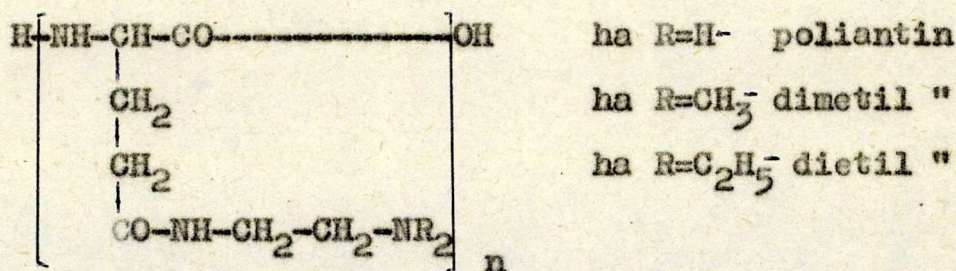
antibakteriális és antiviruses hatást mutat, pl. teljesen megakadályozza a gennykeltő *Staphylococcus aureus* baktériumok fejlődését. Farmakológiai célra viszont erős toxicitása, valamint proteolitikus enzimek hatására történő gyors lebomlása miatt nem alkalmazható.

A fent említett természetes polipeptidek, illetve a mesterségesen előállított peptidvázas polibázisok bázisos jellegét a peptidláncba beépült bázisos aminosavak jelenléte okozta (lizin, arginin). Kovács K. és

Kótai A. (2.3) előállítottak a fentitől eltérő szerkezetű szintetikus peptidvázás polibázisokat is, amelyek hasonló biológiai hatásuk, s a gyógyászatban is alkalmazhatóak. Az első ilyen vegyületet az α -poli-L-glutaminsav- γ -metilészter és az etiléndiamin reakciójával állították elő:



Ezt a vegyületet "poliantinnak" nevezték el. Ha az α -poli-L-glutaminsav- γ -metilésztert 2-dimetilamino-etilaminnal, ill. 2-diethylamino-ethylaminnal reagáltatják, N,N-dimetil- illetve N,N-diethyl-poliantinok állíthatók elő:



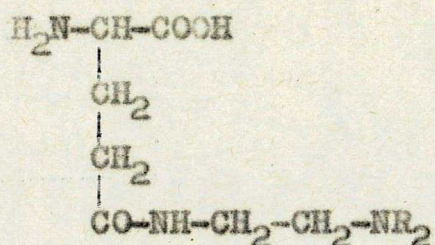
E vegyületek polibázis jellegét szintén amino csoportok okozzák, de a felépítő egységek nem természetes eredetű bázisos aminosavak.

Várható, hogy ezek az anyagok biológiailag aktívak, fehérjebontó enzimekkel szemben fokozott ellenálló képes-

ségük s nem túl nagy toxicitásuk. Valóban a poliantin, s különösen az említett alkilezett származékai antibakteriális és antifág hatást mutattak (4). Az eddigi biológiai vizsgálatok eredményei röviden a következők:

1. A poliantin, de különösen alkilezett származékai antituberkulotikus hatásuk. Ez a hatás a poliantin-hidrokloridnál már 50-100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ koncentrációnál jelentkezik. A készítmény izonicid, sztreptomycin és para-amino-szalicilsav rezisztens törzsekkel szemben is hatásosnak bizonyult, in vivo kísérletek alapján is.
2. In vitro és in vivo kísérletek szerint a poliantin és származékai egyéb baktériumokkal, pl. a gennykeltő Staphylococcussal, ill. a Bacillus subtilissal szemben is hatásosak.
3. A poliantin-származékok gyulladáscsökkentő hatásuknak bizonyultak. Antibakteriális aktivitásuk már 20-50 $\mu\text{g}/\text{ml}$ koncentrációnál jelentkezik. A penicillin és szulfonamid rezisztens törzsekkel szemben is hatásosak. Sérülés vagy műtét után kemoterapeutikumként profilaktikusan is alkalmazhatók. A sebgyógyulás idejét felére csökkentik.
4. A kvaterner és tercier poliantin-származékok alvadásgátló és antitrombin hatásuk (5). E vegyületek csökkentik a vér fibrinogén szintjét, s ezzel a fibrinogén $\rightarrow$ fibrin átalakulást késleltetik. A poliantin toxicitása alacsony, egereknél $\text{LD}_{50} = 850 \text{ mg/kg}$.

Felvetődik az a kérdés, hogy az említett polibázisok biológiai hatása hogyan függ a vegyületek kémiai szerkezetétől, ill. polimerizációs fokától? Katschalski végezte az első ilyen kísérleteket (1). Tapasztalatai szerint a poli-L-lizin biológiai aktivitása a molsúly csökkenésével párhuzamosan csökken. Magának a lizinnek és a kis tagszámú oligo-L-lizineknek (nyolcas polimerizációs fokig) antibakteriális hatásuk nincs. Valószínűnek látszik, hogy a biológiai aktivitás szempontjából alapvető jelentőségű a polibázis jelleg, a sok funkciós csoport halmozódása a molekulán belül. A mesterségesen előállított polibázisok szerkezetébe beépült aminok - a lizinhez hasonlóan - nem mutatnak biológiai aktivitást. Nem volt azonban még kísérleti bizonyíték arra, hogy a poliantinokat felépítő monomer szerkezeti részek



milyen hatásuk baktériumokkal és vírusokkal szemben?

Első sorban (in vitro kísérletekben) részletesen meg kellett vizsgálni proteolitikus enzimekkel szemben tanúsított tulajdonságaikat s farmakológiai hatásukat, mely biológiai aktivitásukat magyarázza. Ezeket a vegyületeket tehát elő kellett állítani és farmakológiailag részletesen meg kellett vizsgálni.

A polimerekkel kapcsolatban már felvetődött az a lehetőség, hogy a készítmények esetenkénti magasabb toxicitása lecsökkenne, ha a poliantinban ill. dialkil-poliantinokban a glutaminsav-részek γ -karboxil csoportjai részben szabadon maradnának. Ezért szükségesnek látszott olyan dipeptid modell vegyületek előállítása is, amelyek a bázisos és savas csoportokat különböző arányban tartalmazzák. Ezeknek a vegyületeknek a vizsgálata farmakológiai szempontból érdekes, mert segítségükkel feleletet kaphatunk arra a kérdésre, hogy valóban a bázisos csoport felelős-e a biológiai hatásért, illetve milyen feltételei vannak e hatásnak?

Az említett modellvegyületek szintézise kémiai szempontból is újszerű vállalkozás. A poliantint, illetve dialkil-poliantinokat a poli-L-glutaminsav- γ -metilészterből szintetizálták, az észtercsoportok aminolízisével. A végtermékek tisztítása nem okozott nagy nehézséget. (Az aminolízissel nyert polibázis szerves oldószerekben meglehetősen oldhatatlan.) A megfelelő monomer, illetve dimer modellvegyületek szintézisének viszont sok probléma merült fel, itt csak a legfontosabbakat említem meg:

- 1) A 2-dialkilamino-etilaminok kapcsolása nem mindig oldható meg a peptidkémiaiban alkalmazott, szokásos kapcsolási módszerekkel.
- 2) A glutaminsav egyes származékai könnyen ciklizálódnak (pirrolidon-gyűrű, ill. glutarimid-gyűrű képződés!)

A molekulában jelen lévő tercier nitrogén ezeket a folyamatokat katalizálja.

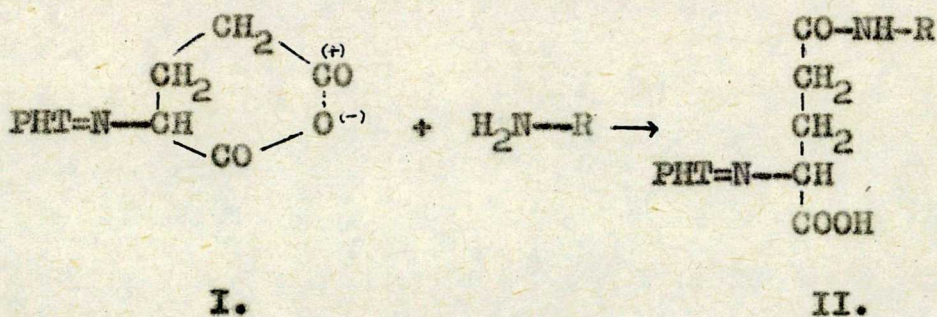
- 3) A monomerek szabad α -karboxil csoportja csak különleges körülmények között vihető peptidkapcsolásba a tercier nitrogén katalizálta glutárimid-gyűrű képződés veszélye miatt.
- 4) Az amfoter jellegű végtermékek igen nehezen tisztíthatóak.

A sokféle nehézség ellenére az említett modellvegyületek előállítása sikerült.

I. E L M É L E T I R É S Z

a) A DIAIKIL - POLIANTIN MONOMÉREK ELŐÁLLÍTÁSA

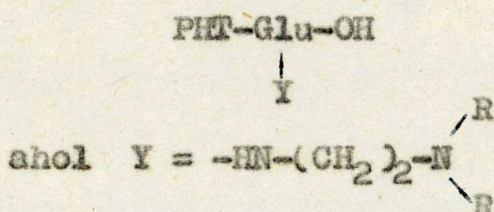
Az előre várható nehézségek miatt először a leg-egyszerűbb módszerekkel törekedtem a monomerek szintézisére. Glutaminsav- γ -amidok előállítására nagyon egyszerű, jó kitermeléssel járó, viszont optikailag inaktív végterméket szolgáltatató módszer, amelyet King és Kidd (6) illetve Sheehan és Frank (7) dolgoztak ki. A szintézis kiindulási anyaga a könnyen előállítható ftalil-DL-glutaminsav-anhidrid volt. Ez a vegyület a primer aminokkal jól reagál, a reakció során a megfelelő ftalil-DL-glutaminsav- α - ill. γ -amidok keletkeznek. Wieland és Weidenmüller (8) kísérletileg igazolta, hogy erősen poláros oldószerekben csak a γ -amino-származék keletkezik. Ezt úgy magyarázzák, hogy az aszimmetrikus-szerkezetű anhidrid kötési rendszere autodisszociáció révén meg bomlik, s az erősebb sav - az α -karboxil csoport - karboxilát-aniont képez. Így csak a pozitív töltésű γ -karbonil csoporton támadhat a nukleofil amino csoport:



A keletkezett reakciótermékek (II) általában jól kristályosodó anyagok. A ftalil-védőcsoport eltávolítását Ing és Manske úgy oldották meg, hogy a keletkezett termék (II) alkoholos oldatát ekvimoláris hidrazinhidráttal reagáltatták melegítés közben (9).

A keletkező ftalilhidrazid hig savakban és hideg vízben nem oldódik, ezért a reakciókeverék bepárlásával nyert maradékból a végtermék hig savakkal, vagy vízzel kioldható. Ing és Manske (9) 2N HCl-el, míg Friedmann és Chatterji (10) - glutaminsav származékok esetében - vízzel, vagy hig ecetsavval oldotta ki a végterméket.

Friedmann és Chatterji több N-szubsztituált glutamin-származékot állított elő a fent vázolt módon, közöttük a kolamin és az etiléndiamin származékát is. Tapasztalataik alapján kezdtem hozzá a ftalil-DL-glutaminsav- γ -2-dimetilamino-etil- ill. 2-diethylamino-etil-amid (III. és IV.) előállításához.

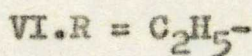
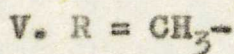
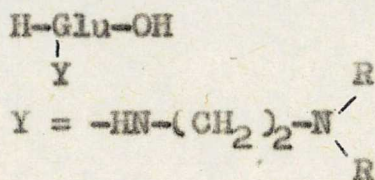


III. $\text{R} = \text{CH}_3\text{-}$

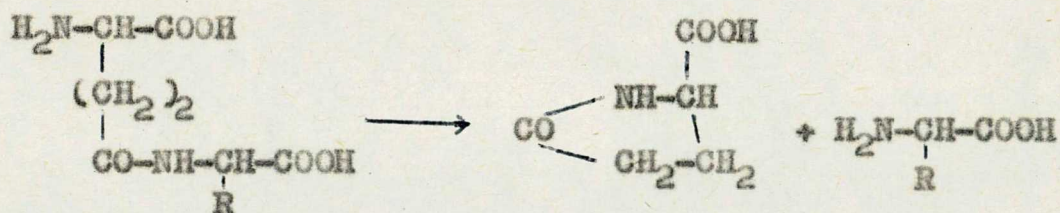
IV. $\text{R} = \text{C}_2\text{H}_5\text{-}$

A ftalil-DL-glutaminsavanhidrid és a megfelelő amin dioxános oldatban igen gyorsan reagál egymással. A keletkező termék félig olajos alakban válik ki, de 1-2 nap után átkristályosodik. Így a hasonló receptek-

ben közölt 1-4 órás forralás feleslegesnek látszott, sőt célszerűtlennek bizonyult. A ftalil csoport hidrazinnal való eltávolítása után viszont nem tudtam izolálni a megfelelő γ -amidot, bár a reakció lejátszódását az alkoholban kevésbé oldódó ftalilhidrazid kiválása jelezte. A reakciókeverékből csak jelentős mennyiségű 2-dialkilamino-
-etilamin hidrokloridot tudtam izolálni. Ez azt mutatta, hogy a deftalilizés során keletkező DL-glutaminsav- γ -2-
-dimetilaminoetil- ill. 2-dietilaminoetil-amid (V. és VI.)
lúgos közegben igen labilis



Szabad amino csoportot és γ -glutamil-kötést tartalmazó vegyületek bomlékonyságára több szerző is utal. Le Quesne és Young (11) kísérletei szerint a γ -glutamil-
-aminosavak vizes oldatban 24 órás forralás után többé-
-kevésbé hidrolizálnak piroglutaminsav s a másik amino-
sav-komponens keletkezése közben. A hidrolízis folyama-
tát a következőképpen értelmezik :

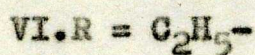
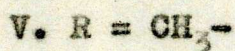
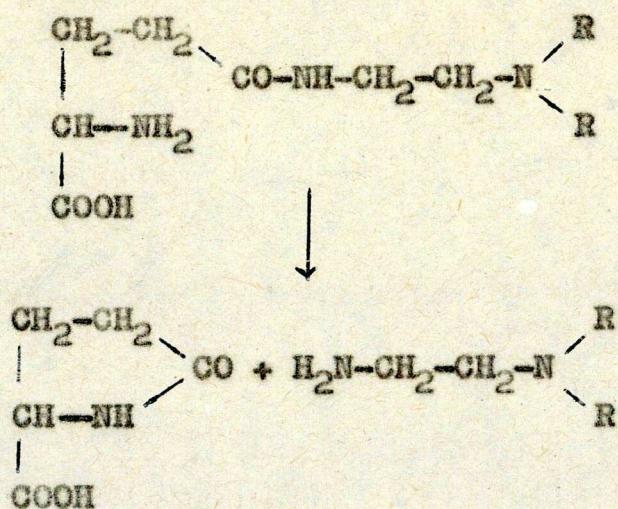


A reakció tehát intramolekuláris szubsztitúció. A gluta-

minsav- γ -amid labilitását a szabad α -amino csoport kedvező térhelyzete okozza. (A kötés felbomlásakor stabil, ötös tagszámú gyűrű képződhet. Ezzel összhangban áll az a tény, hogy a szabad amino csoportot tartalmazó aszparagil-peptidek β -savamid kötése közismerten stabilis).

Japán kutatók (12) kísérletei szerint a szabad α -amino csoportot tartalmazó γ -glutamil-peptidek 100 C°-on néhány óra alatt teljesen pirolidonkarbonsavra hasadnak, a γ -glutamil-kötés hidrolízisével. Az α -glutamil kötést tartalmazó peptidek viszont csak 20 órai főzés után kezdenek hasadni.

Kísérleteim eredménye tehát a következőképpen értelmezhető:



A deftalilezés során keletkező termékek kromatográfiás ellenőrzése azt bizonyította, hogy a reakció során keletkező V. ill. VI. a 15-20. percig alig bomlik, tovább-

bi melegítés hatására azonban piroglutaminsavra és 2-dialkil-amino-etilaminra hasad. Mint említettem, a reakciókeverékből a 2-dialkilamino-etilamin hidroklorid izolálható, a piroglutaminsav kromatográfiásan kimutatható. Ezért a deftalilezési reakciót módosítva és kellő időben (kb. a 15-20. percben) megszakítva a reakciókeverékből főleg az V. ill. VI. és ftalilhidrazid izolálható. A további kísérletek azt bizonyították, hogy célszerű két ekvivalens hidrazinhidrát alkalmazása. Így 10 perc alatt teljesen végbemegy a deftalilezés és az V. ill. VI. bomlása még alig indul meg. Megfelelő kiindulási anyag koncentrációt alkalmazva a reakció végpontját a termékek gyors kicsapódása jelzi, az egész reakciókeverék hirtelen megszilárdul. A ftalilhidrazid mellől 10%-os sósavval kioldható az V. és VI. A sósavas oldat vákuumbepárlása után visszamaradt olajat etanollal kezelve a szennyezésként jelenlevő hidrazin-dihidroklorid eltávolítható. Az V. és VI. kristályosodását a még jelenlevő kevés víz, ill. a sósav feleslege erősen zavarja. Ezek eltávolítása után már könnyen kristályosodnak.

Megállapítottam, hogy az V. és VI. lugos közegben (pl. hidrazin jelenlétében) rendkívül bomlékony. Ez a bomlékonyság jóval felülmúlja a γ -glutamil kötést tartalmazó peptidekét s a molekulában lévő terciér amino csoport bázicitása nagy szerepet játszik benne.

A DL-glutaminsav- γ -amidok előállításánál szerzett tapasztalatok alapján kezdtem hozzá az L-módosulatok előállításához. A ftalil-L-glutaminsavat Neikens módszerével

nyertem. (13) A ftalil-L-glutaminsav-anhidrid készítésére az irodalomban közölt módszert használtam, kis módosítással. A változtatásnak az a lényege, hogy az 5 perces ecetsavanhidrides melegítés utáni hosszú bepárlást elhagytam, mert többször racemizációt okozott, e helyett az ecetsavanhidrides oldatból hűtés után éterrel csaptam ki a ftalil-L-glutaminsav-anhidridet. A szintézis többi lépése megegyezik a DL-módosulatnál tárgyalt lépésekkel.

Az ELTE Szerves Kémiai Tanszékén Szókán Gyula tanársegéd kísérletezett hasonló glutaminsav-származékok előállításával. Kiindulási anyaga a karbobenzoxi-L-glutaminsav- α -benzil- γ -p.nitrofenil-észter volt. Ezzel sikerült acileznie a 2-dimetilamino-etilamint. A védőcsoportokat katalitikus hidrogénezéssel távolította el. A kapott anyag optikai aktivitása megegyezett az általam előállított V. vegyület optikai aktivitásával.

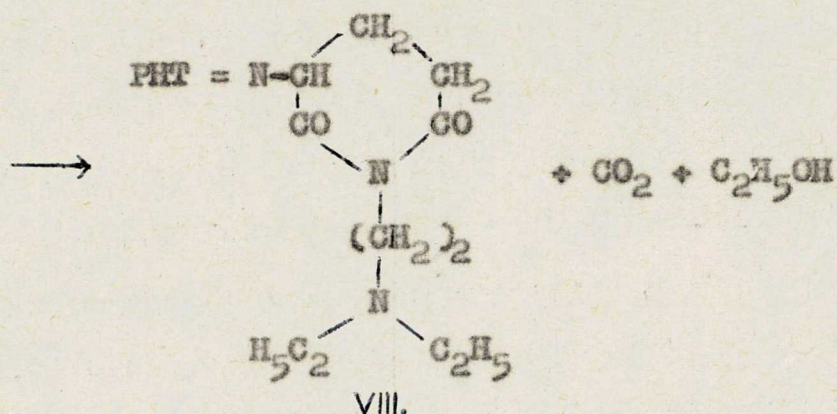
Az elmondottakból világosan kitűnik, hogy két különböző úton is sikerült DL ill. L-módosulat formájában előállítani a dialkil-poliantinok monomérjeit. A termékek sem antituberkulotikus, sem antiviruses hatást nem mutatnak. A további farmakológiai vizsgálatok folyamatban vannak.

**b) KISÉRLETEK DIPEPTID-MODELLVEGYÜLETEK ELŐÁLLÍTÁSÁRA
(Tercier amino-csoportot tartalmazó glutaminsav-származékok különleges reakciói.)**

A biológiailag aktív poliantin, ill. származékai elég nagy polimerizációs fokú vegyületek. Mivel az elő-

állított monomérek nem mutattak farmakológiai hatást, felmerül a kérdés, hogy melyik az a minimális polimerizációs fok, amely már a felsorolt biológiai hatásokkal jár? Ennek a kérdésnek az eldöntésére elő kellene állítani a megfelelő modellvegyületeket: a di-, tri-, tetra- stb. peptideket. Ezek közül a felmerült nehézségek miatt csak néhány dipeptid modellvegyület előállítására került sor.

A legegyszerűbb dipeptid előállítására rendelkezésemre állott az előző kísérletek során előállított ftalil-DL-glutaminsav- γ -2-dialkilamino-etilamid (III. ill. IV.) és a DL-glutaminsav- γ -2-dialkilamino-etilamid (V. ill. VI.), és a VI. α -metilésztere (VII). Legelső kísérleteimben megpróbáltam elkészíteni a III. és IV. vegyes anhidridjét: egyrészt Boissonnas, ill. Vaughan módszere szerint klórszánsav-etilészterrel (14-15), másrészt Wieland és Heinke módszere szerint foszforoxikloriddal (16). A vegyes anhidrid előállításával különböző oldószerekben (kloroform, dioxán, tetrahidrofurán) és különböző hőfokokon (-20°C , -10°C , 0°C) próbálkoztam. A reakcióelegyhez ekvivalens mennyiségű ammóniát, ill. VII. vegyületet adtam. Néhány órai állás után a reakcióelegyből kromatográfiásan megpróbáltam kimutatni a keletkezett amidot, ill. a dipeptidet, de sikertelenül. Ebből arra következtethettem, hogy az említett módon a dipeptid nem állítható elő. Megpróbálkoztam más karboxil-aktiválási módszerekkel is. Könnyen megvalósíthatónak látszott Bodánszky M. és V. du Vigneaud módszerével (17) a III. ill. IV. para-nitrofenil-észtereinek előállítása DCC



Ehhez hasonló folyamat játszódik le bármelyik karboxil-aktivált származék esetén is: az aktiv származék még a keletkezés pillanatában ciklizál. Nem állítható elő pl. a III. és IV. p. nitrofenilésztere sem, csak abban az esetben, ha a kiindulási termék bázicitását előzőleg megszüntettük. A kapott aktiv észter viszont nem vihető egyértelműen kapcsolatba, mellékreakcióként mindig fellép a glutárimid gyűrű képződése.

Az említett reakcióból az volt meglepő számomra, hogy kizárólag a VIII. képződött. Ez a glutaminsav és aszparaginsav részt tartalmazó peptidek intramolekuláris transzpeptidációja segítségével magyarázható meg.

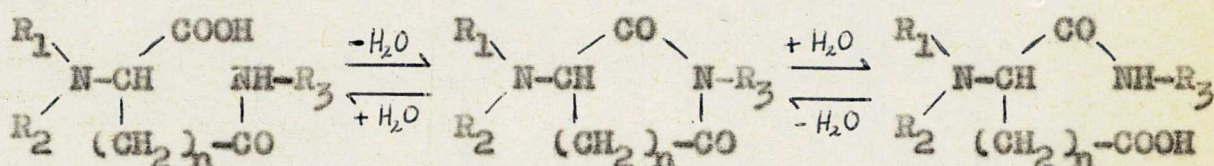
Aminodikarbonsavat tartalmazó peptideknél két esetben figyelhető meg intramolekuláris transzpeptidáció:

1. A peptidek aszparagil- vagy glutamil-részei szabad α - vagy ω -karboxil csoportot tartalmaznak.

2. Az asparaginsav vagy glutaminsav-észtereket tartalmazó peptideket bázisok hatásának tesszük ki.

1. 1952-ben Bruckner Gy. és Kovács J. (20) összefoglaló cikkben számoltak be peptidek intramolekuláris $\alpha \rightleftharpoons \omega$ transzpeptidációjáról, s a glutárimid gyűrű szerepéről a

transzpeptidáció során. A folyamatot a következőképpen értelmezik:



A. 1. $n = 1$

2. $n = 2$

B. 1. $n = 1$

2. $n = 2$

C. 1. $n = 1$

2. $n = 2$

Az A -ből képződő glutarimid-gyűrű lugos behatásra könnyen hasad, s a végtermékek között már jelentős mennyiségű α -glutamil-peptid is van (21). A gyűrűképződést elősegíti, hogy stabilis hatos ciklus kialakulására nyílik lehetőség. A kialakult glutarimid-gyűrű stabilitását az is bizonyítja, hogy még a pirrolidongyűrűből is könnyedén képződik, míg a fordított átalakulást eddig nem sikerült megfigyelni. (22) A reverzibilis $\alpha \rightleftharpoons \omega$ transzpeptidáció részletes vizsgálatával több kutatócsoport is foglalkozott, eredményeikről számtalan cikkben számolnak be (23-30). Ezek a vizsgálatok főleg a glutarimid-gyűrű stabilitásával foglalkoznak, peptid és polipeptid modellvegyületeknél. Megállapították, hogy a B. típusu imid-gyűrűk még a fehérjék és peptidek hidrolízisének alkalmazott körülmények között (sőt, cc. sósavban) is képződnek (31-32).

2. Sondheimer és Holley figyelte meg először, hogy aszparaginsav ill. glutaminsav észter részeket tartalmazó peptideknél is fellép az $\alpha \rightleftharpoons \omega$ transzpeptidáció jelensége (33 a.). Azóta Battensby és Robinson (34), Bernhard és

munkatársai (35) ill. más kutatócsoportok (33b.) (36) foglalkoztak a kérdéssel. Ebben az esetben az imid-gyűrű képződését a bázisos közeg katalizálja, míg az előbbieik szerint a B. képződése (akár az A-ból, akár a C-ből) koncentrált sósavban (a karbonsavak észterezéséhez hasonlóan) savkatalizálta reakcióként értelmezhető. Az aszparaginsav- és glutaminsav-észterek lugos hidrolizise esetén gyakran fellépő $\alpha \rightleftharpoons \omega$ transzpeptidáció miatt ajánlotta Schwyzer a terc-butilészter védőcsoport alkalmazását, metil- és benzil-csoport helyett (37).

Az $\alpha \rightleftharpoons \omega$ transzpeptidáció mechanizmusának figyelembevételével eredményeim a következőképpen magyarázhatók: a karbonsavésztereknél a p.-nitrofenil-észterek, anhidridek és a többi származék jóval aktívabb. A molekulában levő terc. amino csoport biztosítja a bázisos közeget, s mintegy katalizálja a glutárimid-gyűrű képződését. Így egyáltalában nem meglepő, hogy a VIII. képződése kizárólagos, ill. hogy a gyűrű meglehetősen stabil, az alkalmazott amino komponens nukleofil támadására nem nyílik fel. (Feltételeztem, hogy a molekula bázisos jellege mellett esetleg különleges térszerkezeti tényezők - pl. a két amino-csoport egymáshoz viszonyított helyzete - is közrejátszanak a ciklus képződésben, ezt azonban nem sikerült bizonyítanom.) A III. és IV. termék aktiv észterei csak úgy állíthatók elő, ha a terciér amino csoportot protonáljuk, bázisos közegben nem létképesek.

A 2-dialkilamino-etilaminok bázisos jellegével magyarázható, hogy peptidkapcsolási módszerekkel nem sikerült

a glutaminsav-bis-2-dialkilamino-etilamidjainak a szintézise. Akár a karbobenziloxi-L-glutaminsav-bis-p.nitrofenil-észterből indultam ki, akár a karbobenziloxi-L-glutaminsavból vegyes anhidriddel vagy DCC-vel próbáltam a bis-amidot elkészíteni, minden esetben csak a karbobenziloxi-L-glutaminsav-N-2-dialkilamino-etil-imidjét kaptam. A reakció során képződő, α - vagy γ -amid származék kedvező térhelyzet s a bázisos jelleg folytán reakcióba lépett a másik karboxil-csoporttal, glutárimid-gyűrű képződött, a bis-amid képződése alig figyelhető meg.

A VIII. nemcsak elméleti szempontból figyelemreméltó, farmakológiailag is érdekes. Glutárimid-gyűrűt tartalmaz pl. a Noxyron elnevezésű szedativum. Medzihradszky K. (21) ill. Kunz és Keller (38) ftalil-DL-glutaminból állították elő a ftalil-DL-glutaminsav-imidet, amely szintén kiváló szedativumnak bizonyult. Ez a vegyület Contergan, ill. Thalidomid néven került forgalomba, s az összes hasonló gyógyszer közül szelektív hatásával és igen csekély toxicitásával tűnt ki. 1961. novemberében Lenz hívta fel a figyelmet arra, hogy talán a Contergan felelős a Nyugat-Németországban ugrásszerűen megnövekedett számu fejlődési rendellenességek fellépéséért? (39) Azóta számtalan vizsgálat bizonyította, hogy a vegyület erősen teratogén hatású, ezt a hatását már néhány μ g. Thalidomid is kifejti. Mivel a bisz-acilamid-rendszer hidrolízisre igen érzékeny, a szervezetben 10-12 féle bomlástermékre hasadhat szét, azonban ezek egyike sem mutat teratogén hatást. (40) Mivel ehhez a hatáshoz kis anyagmennyiség szükséges, többen feltételezik, hogy a vegyület a szervezet anyagcsere folyamataiba kritikus helyen, döntően

avatkozik be. Furberg szerint ez a hatás elsősorban a nukleinsavak szintézisének lehet (41). Más kutatók vizsgálatai alátámasztják azt az elképzelést, hogy a Thalidomid fólsav-antagonistaként szerepelhet. (42) A farmakológiai vizsgálatok számára a Thalidomid számtalan analógját állították már elő, ezek közül csak néhánynak az irodalmát említem meg (43 a.b.). A VIII. vegyület is a Thalidomid-származéka: "N-dietilaminoetil-Thalidomid". Mivel a ftalil-DL-glutaminsav-imidet a ftalil-DL-glutaminból 200 C°-on ömlesztéssel állítják elő, megpróbáltam a VIII-at hasonló módon előállítani. Ez nem sikerült, mivel az ömlesztés hőfokán trietilamin hasadt le a molekuláról, s végtermékként a Thalidomidot izoláltam. Sikerült viszont a VIII. vegyület acetátját a III. ecetsavanhidrides melegítésével előállítanom, így egy meglehetősen egyszerű szintézis módot találtam. A VIII. különben farmakológiailag nem aktív, teratogén hatását eddig még nem vizsgálták meg.

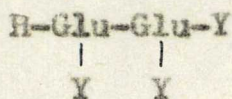
c) A DIMETIL-POLIANLIN DIPEPTID MODELLVEGYÜLETEINEK SZINTÉZISE

Az előző kísérletekből levont elméleti következtetések szerint a terciér amino csoportot tartalmazó glutaminsav származékok szabad karboxil csoportját csak speciális körülmények között lehet peptidkapcsolásba vinni. Bár a III. vegyület p. nitrofenil-észterét előállítottam, a dipeptid modellvegyületek szintézisét nem ennek segítségével oldottam meg, hanem más védő csoportok alkalmazásával.

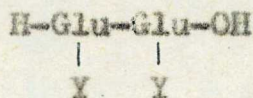
Ennek a változtatásnak több oka volt. Az optikailag aktív ftalil származékokat elég körülményesen lehet előállítani, s a hidrazinos deftalilezés mindig jelentős bomlással jár a bázisos közeg miatt. A ftalilhidrazid képződése is megnehezíti a végtermék tisztítását, s a glutarimid-gyűrűs vegyületek képződését nem lehet kiküszöbölni. Az említett hibákat úgy próbáltam elkerülni, hogy először felépítettem a "dipeptid-vázat" (N-acil-glutamil-glutaminsavészter) és a 2-dimetilamino-etilamint a már kész "dipeptid-vázra" próbáltam kapcsolni különböző módszerekkel.

A következő dipeptid modellvegyületek előállítását tűztem ki célul:

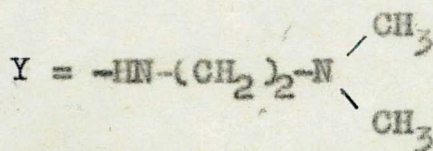
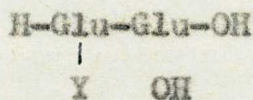
- 1) L-glutamil-(γ -2-dimetilamino-etilamid)-L-glutaminsav-
-bis-2-dimetilamino-etilamid (IX.)



- 2) L-glutamil-(γ -2-dimetilamino-etilamid)-L-glutaminsav-
- γ -2-dimetilamino-etilamid (X.)

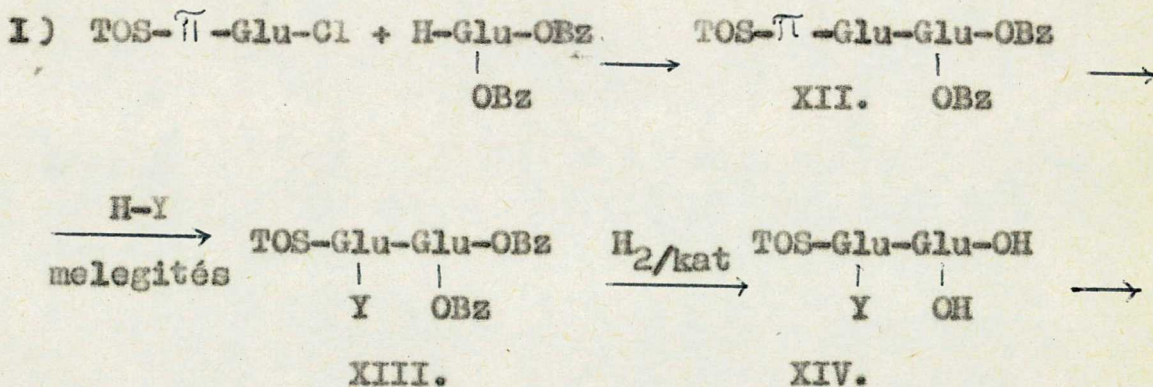


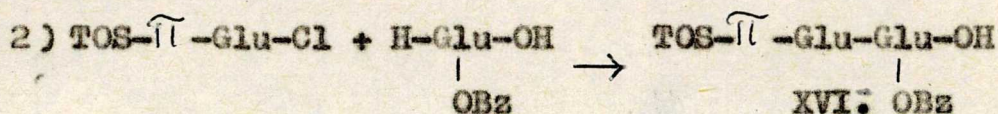
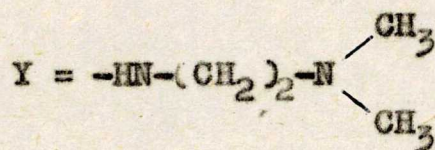
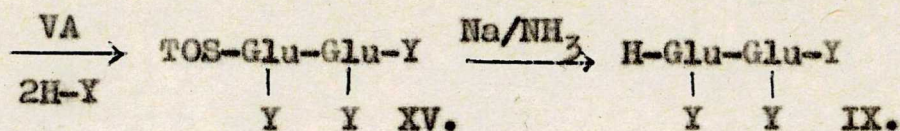
- 3) L-glutamil-(γ -2-dimetilamino-etilamid)-L-glutaminsav (XI.).



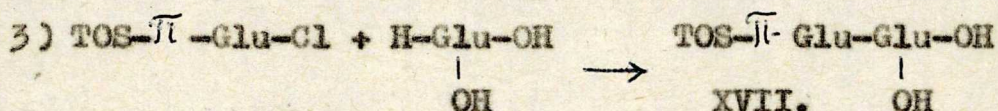
(Ezekben a vegyületekben a bázisos és savas csoportok aránya rendre 4/0 ; 3/1 ill. 2/2.)

Glutaminsav- α -peptidek γ -amidjainak előállítására jól felhasználhatók a piroglutaminsav N-acil-származékai. A piroglutaminsavat már régebben használják α - és γ -glutaminsav-peptidek szintézisére (Grassmann és Wunsch (44)). A laktám-gyűrű nyitása egyensúlyra vezető folyamat, sok esetben nehezen megy végbe, a keletkező termékek oldékonysága is döntő szerepet játszik ebben (Lichtenstein (45a.), Sakato (45b.)). A laktám-gyűrű sokkal könnyebben nyitható, sokkal érzékenyebb nukleofil támadásra, ha NH-csoportja tozilezve van. (Rudinger (46a.), Beecham (46b.), Swan és Du Vigneaud (46c.), Stedman (46d.), Gawron (46e.)) A tozil-L-piroglutaminsav a tozil-L-glutaminsavból tionil-kloriddal (46a.), acetilkloriddal (47a.), ecetsavanhidriddel (47b.) vagy DCC-vel (47.c.) állítható elő. Rudinger kísérletei szerint pl. tozil-L-piroglutaminsavból néhány percig anilinnel melegítve tozil-L-glutaminsav- γ -anilid képződik. Analóg reakció játszódik le tozik-L-piroglutamil-részt tartalmazó peptidek esetén is. Ezért a tervbe vett IX., X. és XI. vegyületek szintézisét a következő módon szándékoztam megoldani:





(A további lépések a IX. előállításánál tervezettekkel analógok.)



(A további lépések itt is analógok a IX. előállítására tervezettekkel.)

A szintézisek legfontosabb kiindulási anyaga a tozil-L-pirolutaminsav-klorid, ezt Harrington és Moggridge (46b.) ill. Rudinger (46a.) előiratai alapján állítottam elő. A X. terméket a tozil-L-pirolutaminsav-kloridból és L-glutaminsav-dibenzilészterből Rudinger módszerével nyertem. Megpróbálkoztam azzal is, hogy hasonló módon - a tozil-L-pirolutaminsav-klorid és L-glutaminsav- γ -benzilészter, ill. L-glutaminsav reakciójával - állítsam elő a XVI. és XVII. vegyületeket, de a szintézis eredménytelen volt. A sikertelenséget az L-glutaminsav- γ -benzilészter, ill. a glutaminsav igen rossz oldékonysága okozta. A XII. előállításánál a savklorid és az L-glutaminsav-dibenzilészter egyaránt oldód-

tak a kloroformos fázisban s a reakció 10-15 perc alatt végbement, ha a keletkezett sav megkötéséről gondoskodunk. A XVI. és XVII. előállításánál a savklorid a kloroformos fázisban, az L-glutaminsav, ill. L-glutaminsav- γ -benzilészter a vizes, NaHCO_3 -os fázisban oldódott, és sem az erőteljes keverés, sem a megnövelt reakcióidő nem hozta meg a kívánt eredményt. (A kloroformos fázisból szinte változatlan mennyiségben visszanyertem a savkloridot, a vizes fázis átsavanyításakor kevés tozil-L-glutaminsav vált ki, ez a savklorid hidrolízisével keletkezett.) Elhatároztam, hogy további felesleges kísérletek helyett más módon oldom meg a XVI. és XVII. szintézisét: a XVII-et a XIV. vegyület detozilezésével nyerem, a XVI. termék előállításánál pedig L-glutaminsav- γ -benzilészter helyett a kloroformban jól oldódó L-glutaminsav- γ -benzil- α -tercbutilészterből indulok ki, s a szintézis legutolsó lépésénél távolítom el a terc. butilészter védőcsoportot. Ezekre a szintézisekre a XIII. előállításánál felmerült újabb problémák miatt nem került sor.

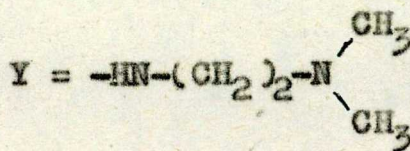
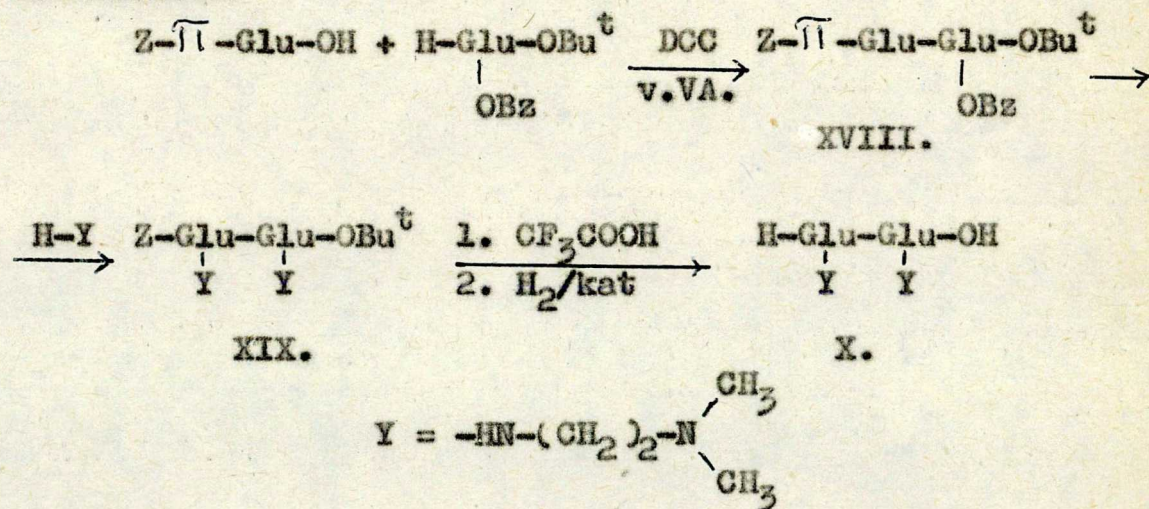
A XIII. előállítása céljából a XII-t 2-dimetilamino-
-etilaminban oldottam, s 5'-ig 100 C°-on, illetve párhuzamos kísérletben 2 órán át 20 C°-on tartottam a keveréket. Mindkét esetben az oldatból kristályos anyag vált ki. Az izolált termék erősen elhuzódó olvadáspontot mutatott, (120-200 C°) s vékonyréteg kromatogramon 7 foltot adott, ezek közül 3 nagyobb intenzitású volt a többinél. Az analíziseredmény azt mutatta, hogy a keverék anyag molekulán-

ként kb. 2 bázisos amint tartalmaz. Az alkalmazott körülmények között az aminolízis során tehát nem volt szelektív a piroglutaminsav-gyűrű felnyílása, hanem a benzilészter védőcsoportok is jórészt aminolízist szenvedtek. A további kísérletek azt mutatták, hogy a rendkívül reakcióképes aminnal szemben a piroglutaminsav-gyűrű, ill. a glutaminsav-benzilészter kb. egyformán érzékeny. Ezért a XIII. és XIV. közti termékeket nem sikerült előállítanom, viszont a XII. és az amin közötti reakcióidő 90°-re növelésével sikerült a XV-öt rövidebb úton előállítani. Ez az anyag kromatográfiásan egységesen viselkedett, analízise is a várakozásnak megfelelő volt, a kísérő aminszenyezéstől viszont csak igen hosszú és fáradtságos tisztítási műveletek után tudtam megszabadítani. A tozil védőcsoport eltávolítását du Vigneaud módszerével (48) oldottam meg. A IX. végtermék megtisztítása a detozilezés során képződő szervetlen anyagoktól a vártnál könnyebb volt, mivel ez a vegyület csak bázisos csoportot tartalmaz, ezért anioncserélő oszlopon nem kötődik meg. Első lépésben tehát a IX. vegyületet tartalmazó oldatból kationcserélő gyantával a Na^+ ionokat NH_4^+ ionokra, majd anioncserélő gyantával az acetát, szulfát és szulfít-ionokat hidroxilionokra cseréltem. A nyert oldat vákuumbepárlása után tisztán maradt vissza a IX, ezt tetrahidroklorid formában izoláltam.

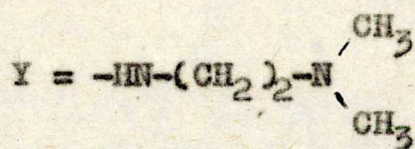
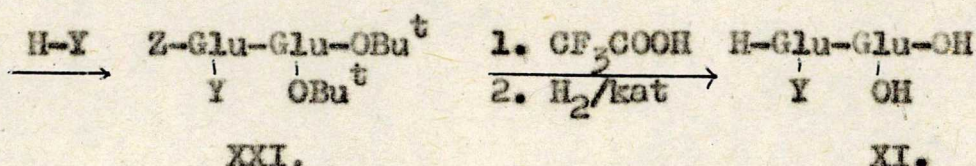
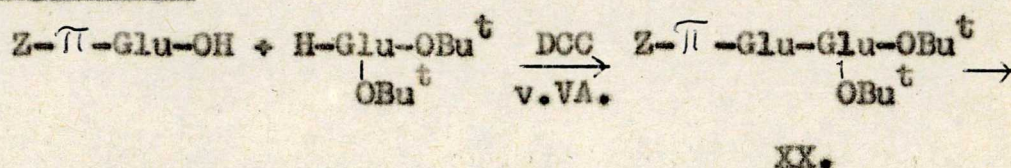
A IX. dipeptid szintézisének nyert tapasztalatok arra késztettek, hogy más védőcsoportot alkalmazzak. Mivel a XIII. előállítása nem sikerült, nem gondolhattam

a XI. dipeptid előállítására sem a tervezett uton. Ugy gondoltam, hogy bár a X. dipeptid a már ismertetett módon előállítható, a detozilezés után tisztítási nehézségek fognak fellépni. (Az anyag amfoter karakterű, vizoldékony, a detozilezésnél keletkező szervesetlen anyagoktól még ioncserélő oszlopon is nehezen tisztítható meg.) Ezért elhatároztam, hogy a X. és XI. dipeptidek szintézisét az igen könnyen eltávolítható karbobenziloxi védőcsoporttal oldom meg. Klieger és Gibian (47c.) kísérletei szerint a karbobenziloxi-L-piroglutaminsav aminolízisre éppen olyan érzékeny, mint a tozilszármazék, a szintézissterveken ezért nem kellett sokat változtatnom. (A karbobenziloxi-L-piroglutaminsavat Klieger és Gibian (47c.) módszere szerint állítottam elő: karbobenziloxi-L-glutaminsav-anhidridből indultam ki, ezt diciklohexilammal kezelve karbobenziloxi-L-piroglutaminsav diciklohexilammónium só keletkezik.) Az új szintézissterv a még hiányzó 2 dipeptid modellvegyület előállítására a következő volt:

X. dipeptid.



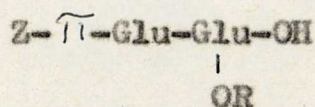
XI. dipeptid.



Az oldékonysági problémák miatt kénytelen voltam glutaminsav diészterekkel dolgozni. Stewart (49) - hasonló típusu glutaminsav peptidek szintézisének - acetonitril-vizes közegben végzett peptidkapcsolást, klórszénsav-izobutilészterből képzett vegyes anhidriddel. Hasonló módszerrel én is megpróbálkoztam, karbobenziloxi-L-pirolglutaminsavból és L-glutaminsav- γ -benzilészterből, ill. L-glutaminsavból Stewart módszere szerint megkíséréltem a karbobenziloxi-L-pirolglutamil-L-glutaminsav- γ -benzilésztert, ill. karbobenziloxi-L-pirolglutamil-L-glutaminsav előállítását. Mivel a kísérleteimben klórszénsav-etilésztert használtam, a kis mennyiségben képződő dipeptideket karbetoxi-glutaminsav- γ -benzilészter, ill. karbetoxi-L-glutaminsav szennyezte. Izolálásuk, tisztításuk nem sikerült, ezért visszatértem az eredeti szintézistervhez. A XVIII. ill. XX. dipeptidek szintézise két uton is sikerült (DCC-kondenzáció, VA. képzés), a keletkezett termékeket nem sikerült kristályosítanom. A következő lépés - ezeknek az

anyagoknak az aminolízisével a XIX. és XXI. szintézise -
váratlan nehézségeket okozott. Taschner (50), valamint
Anderson és Callahan (51) kísérletei szerint az aminosav-
vak terc. butilésztereit ammonolízisnek, aminolízisnek,
hidrazinolízisnek, általában nukleofil támadásnak ellen-
állnak. Így Taschner tozil-L-pirolutaminsav-terc. butil-
észterből hidrazinnal a tozil-L-glutaminsav- α - terc. bu-
tilészter- γ -hidrazidot 90%-os termeléssel készítette el,
melléktermék képződéséről nem ír. Saját kísérleteimben
mégis azt tapasztaltam, hogy a XVIII. és XX. aminolízise
meglehetősen heterogén végterméket ad. A pirolutaminsav-
gyűrű felnyílása, ill. a benzilészter amidálása mellett,
kis mértékben ugyan, de a tercier butilészter védőcsoport
is lehasadt az alkalmazott reakciókörülmények között.
(5' 100 C°-on melegítés, vagy 3-4 óra szobahőn állás.)
Ezt a jelenséget nehéz megmagyarázni. Az irodalomban egy
adat utal a terc. butilészter védőcsoport lúgos hidrolí-
zisére: Bajusz S. szerint (52) peptidláncba beépített asz-
paraginsav- β -terc. butilészter származékok N. lúggal 1 óra
alatt elhidrolizáltak, sőt esetenként a metil észterek-
nél is gyorsabban. Mivel az alkalmazott 2-dimetilamino-
-etilamin fokozott reakció készségű és erősen bázikus ka-
rakterű, nem zárható ki a glutaminsav α - és γ -terc. bu-
tilészterek aminolízise sem. A főtermékként keletkező
XIX. ill. XXI. termékeket tehát (kis mennyiségben ugyan)
hasonló jellegű bázisos dipeptidek szennyezik, ezért töké-
letesen tisztán nem lehetett izolálni őket. A kapott XIX.

és XXI. tehát keverék, olvadáspontja is elhuzódó, igen nehezen kristályosodik. Mivel a X. és XI. dipeptideket föltétlenül tisztán szerettem volna előállítani, a szintézisutat megváltoztattam: a XVIII. ill. XX. termékről trifluorecetsavval megkíséreltem eltávolítani a terc. butilészter védőcsoportokat, hogy megkapjam a karbobenziloxi-L-pirolglutamil-L-glutaminsav- γ -benzilésztert (XXII) ill. karbobenziloxi-L-pirolglutamil-L-glutaminsavat (XXIII).



XXII. R = Bz-

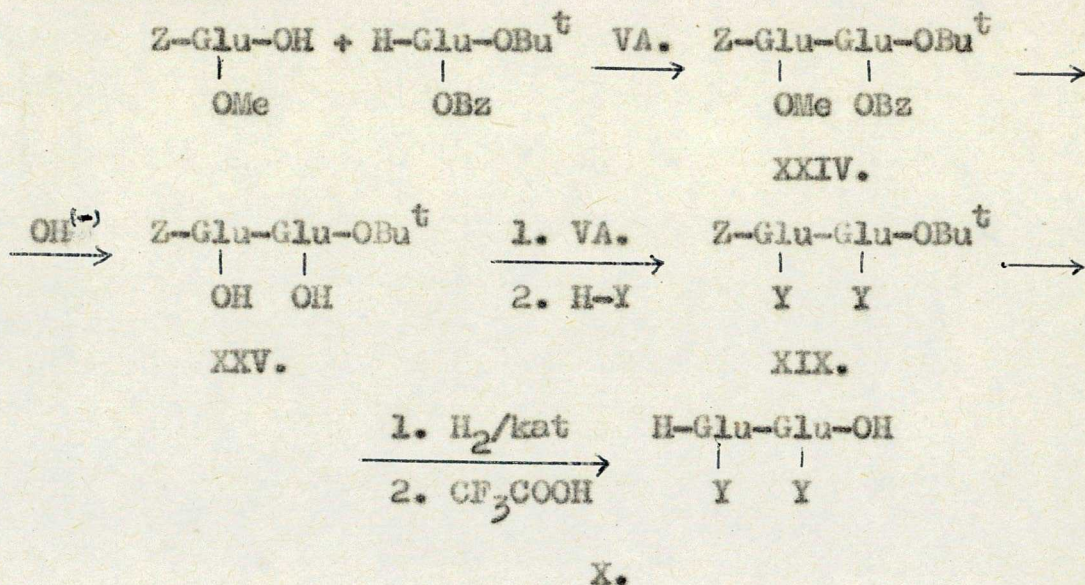
XXIII. R = H-

A XXII. ill. XXIII. aminolízise mellékreakció nélkül vezet a végtermékekhez, bár a szabad karboxil-csoportok miatt a X. és XI. peptid nem szabadon, hanem 2-dimetilamino-etilamin sója formájában lenne izolálható. A terc. butilészterek trifluorecetsavas hidrolízise sem vezetett egységes termékhez: a védőcsoport eltávolításának szokásos módszere a pirolglutaminsav-gyűrű részleges kinyílását okozta. Ezt a jelenséget sem könnyű értelmezni, mivel a pirolglutaminsav laktám-gyűrűje lugos közegben nyílik fel könnyen, savakra kevésbé érzékeny (ld. tozil-L-pirolglutaminsav-klorid előállítása). Ennek ellenére a laktámgyűrű részleges felnyílása bekövetkezett, s ez a szekunder-savamid kötési rendszer savas hidrolízisével magyarázható. A reakciókörülmények enyhébbé tételével sem sikerült teljesen kizárni

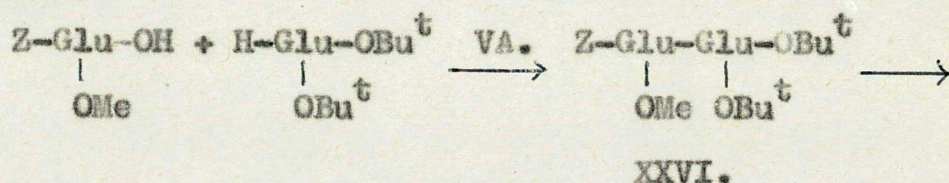
a gyűrű felnyílását, ezért a XXII. és XXIII. termék tiszta állapotban való izolálására nem kerülhetett sor. Így meg kellett elégednem azzal, hogy a XIX. és XXI.-et többé-kevésbé tiszta formában izoláljam, s ismét más szintézis utat kellett keresnem.

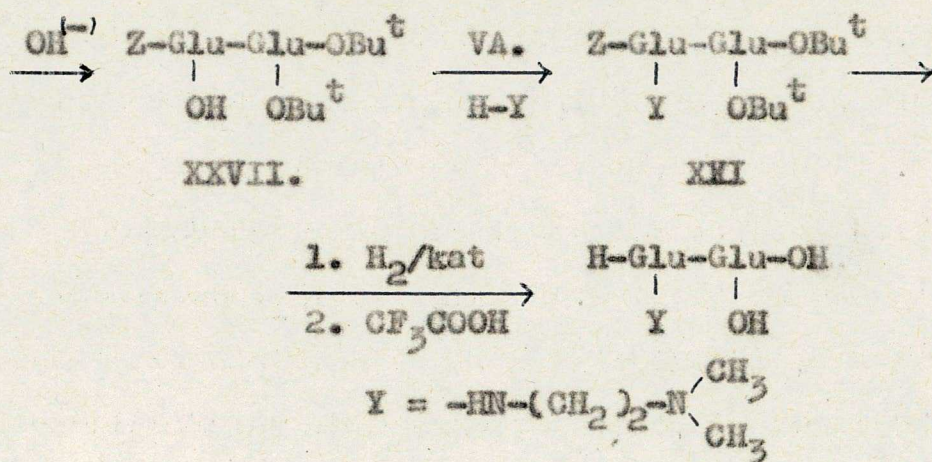
Az eddigi kísérletekből kiderült, hogy ha valóban tiszta termék szintézise a célom, a piroglutaminsav-gyűrű nyitását nem érdemes a 2-dimetilamino-etilaminnal közvetlenül végezni, egyrészt a fellépő mellékreakciók, másrészt a termékek nehéz tisztíthatósága miatt. Az új szintézis-tervet tehát úgy dolgoztam ki, hogy aminolízis ne szerepeljen a reakciólépések között.

X. peptid.



XI. peptid.





A XXIV. ill. XVI. dipeptideket tiszta állapotban sikerült előállítanom. A XXIV. termék lugos hidrolizálásával megkaptam a XXV-öt. A XXVII-t nem tudtam kristályosítani. Vékonyréteg kromatográfiás vizsgálat szerint ugyanis ez az anyag nem egységes, a XXVII. mellett jelentős mennyiségű XXV-öt és még két (nem azonosítható) szennyezést tartalmaz. A lugos hidrolizálásnál tehát kis mértékben a C-terminális glutaminsav terc. butilészter védőcsoportja is hidrolizált (52). A XXV. és XXVII. nagymértékben hasonló kémiai jellege miatt az utóbbi teljesen tiszta állapotban való előállítása nem sikerült. A glutaminsav- γ -terc.butilészterek lugos hidrolizálásának vizsgálatára nem jutott időm, bár ez elméleti és gyakorlati szempontból is érdekesnek ígérkezik.

A XXV-ből DCC-kondenzációval nem sikerült a XIX-et előállítanom annak ellenére, hogy savamidok előállítására is alkalmazzák ezt a módszert. (E. Klieger, H. Gibian (53)). Ennek az oka feltehetően a 2-dimetilamino-etilamin különleges reakcióképessége. Schröder (54a) és Bernhard (54b)

viszont különböző aminosokat (pl. metilamin, etiléndiamin stb.) kapcsoltak vegyes anhidriddel, így a XXV-ből ezzel a módszerrel szintetizáltam a XIX.-et. A karbobenziloxi-védőcsoportot katalitikus hidrogénezéssel, a terc. butilcsoportot trifluorecetsavval távolítottam el. A X. dipeptid trifluoracetátja erősen higroszkópos vegyület.

Összegezve a dipeptidek szintézisét: a kitűzött 3 dipeptid közül csak a IX. és X. szintézisét sikerült megoldanom, a XI. előállításánál előre nem látott nehézségek léptek fel. A nyert dipeptidek, illetve védett származékaik farmakológiai vizsgálata folyamatban van.

ÖSSZEFOGLALÁS

- I. Farmakológiai vizsgálatok céljára előállítottam a dialkil-poliantinok monomerjeit. E vegyületek szintézise ill. a végtermékek tisztítása a molekulában lévő tercier amino csoport miatt számos problémát vetett fel.
- II. Tercier amino csoportot tartalmazó glutaminsav-származékokból megpróbáltam a peptidkémiaiban alkalmazott módszerekkel dipeptid modellvegyületeket szintetizálni. Bázisos közegben kizárólag glutárimid-származékok keletkeztek. Néhány ilyen típusu vegyületet izoláltam. Kutattam a glutárimid-gyűrű stabilitását befolyásoló tényezőket.
- III. A dimetil-poliantin dipeptid modellvegyületeinek szintézisét acil-pirolglutaminsav származékok aminolízisével kívántam megvalósítani. Megállapítottam, hogy a benzilészter védőcsoportok és a pirolglutaminsav laktám-gyűrűje kb. egyező reakciókészségűek a 2-dimetilamino-etilaminnal szemben. Kísérleteim szerint a laktám-gyűrű trifluorecetsavval szemben sem teljesen stabilis.
- IV. Megállapítottam, hogy a glutaminsav terc. butilészterek nukleofil támadással szemben nem teljesen közömbösek.
- V. A dimetil-poliantin két dipeptid-modellvegyületét (IX. és X.) sikerült szintetizálnom. Farmakológiai vizsgálatuk megkezdődött.

II. K I S É R L E T I R É S Z

A reakciók lefutásának ellenőrzésére, egyes melléktermékek kimutatására, ill. a vétermékek tisztaságának vizsgálatára papír- ill. vékonyréteg kromatográfia használható. Szolvenssek:

1. n. butanol-jégecet-víz 4:1:5
2. n. butanol-etanol-víz 4:1:1
3. szek. butanol- 3% NH_4OH 3:1
4. kloroform -éter 1:1
5. n. butanol-piridin-jégecet-víz 30:20:6:24.
6. etilacetát-piridin- jégecet- víz 60:20:6:11

A III. és IV. deftalilezési reakciójának ellenőrzésére a papírkromatográfia a legalkalmasabb, a termékek legjobb elválást az 1-3. szolvenszekben mutatnak. A ftalil-származékok UV-fluoreszcenciájuk alapján, a savas ill. bázisos jellegű vegyületek 0,02%-os brómkrezolzöld oldattal való előhívás után kimutathatók és azonosíthatók.

A XII -XV. tisztaságának vizsgálatára papír-és vékonyréteg kromatográfia egyaránt alkalmas (1-3. szolvens). E vegyületek jóddal, vagy a 2.reagenssel mutathatók ki.

A XVIII -XXVII., karbobenziloxi védőcsoportot tartalmazó vegyületek legalkalmasabb szolvensze az 5. és 6. (vékonyréteg kromatográfia, Kieselgel-G.) A 4. szolvens főleg a Z-dipeptid-észterek tisztaságának ellenőrzésére alkalmas. A Z-védett származékok kimutatása szintén a 2. reagenssel történhet.

A IX. és X. dipeptidek s a 2-dialkilamino-etilaminok ninhidrin reagenssel mutathatók ki.

Reagenssek:

1. Ninhidrin reagens

0,5 g ninhidrint 75 ml 96%-os etanol, 25 ml. viz és 0,5 ml. N. NaOH elegyében oldunk, az oldatot tisztára szűrjük.

2. A savamid kötés kimutatására alkalmas reagenssek

A 0,05 N. KJ oldat

B 0,5 g tolidin, 3 ml jégcetben oldva s vízzel 100 ml-re hígítva.

A kromatogram lapot 5'-ig klór atmoszférában tartjuk, szellőzés után az A és B 1:5 arányu elegyével lepermetezzük.

DL-glutaminsav- γ -kolamid

5,18 g (0,02 mol) ftalil-DL-glutaminsav anhidridet 30 ml száraz dioxánban oldunk, s 1,3 ml (0,022 mol) 2-amino-etanolts csöpögtetünk hozzá, s a reakciókeveréket 1 óráig refluxoljuk. A kapott elegyet lehütjük, majd vákuumban bepároljuk. Az olajos maradékot 40 ml abs. etanolban oldjuk, s az oldathoz 1,1 ml vízmentes hidrazinhidrátot adunk. A keveréket 1,5 óráig refluxoljuk, majd lehütjük és az oldószert csökkentett nyomáson ledesztilláljuk. A kapott olajhoz 10 ml vizet öntünk, s a vízben nem oldódó terméket kiszűrjük (ftalilhidrazid). A vizes oldatot vákuumban bepároljuk, a maradékot 5 ml vízben feloldjuk, s a nem oldódó

kristályokat ismét kiszűrjük. A szűrlethez abs. etanolt adunk kezdődő zavarosodásig, s egy éjjelre hűtőszekrénybe tesszük. További etanol hozzáadásával a kristályosodás teljessé tehető, a nyerstermék súlya 2,8 g (73%).
Op. 180-182 C°. Vizes etanolból átkristályosítható, op. 182 C°.

<u>Összeképlet:</u> $C_7H_{14}O_4N_2$		<u>Mólsúly:</u> 190,2
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 44,2 %	C 45,9 %
	H 7,4 %	H 8,2 %
	N 14,7 %	N 14,5 %

Ftalil-DL-glutaminsav- γ -2-dimetilamino-
etilamid

20 ml abs. dioxánban 2,59 g (0,01 mol) fthalil-DL-glutaminsav anhidridet oldunk fel enyhe melegítés közben. Az oldatot lehűtjük, s hűtés közben 1,2 ml (0,01 mol) 2-dimetilamino-etilamint csepegtetünk hozzá. Azonnal kristályok válnak ki. Egy napi állás után a kristályos anyagot kiszűrjük, exsikkátorban szárítjuk. A nyerstermék súlya 2,6 g, olvadáspontja elhuzódó. Etanolból átkristályosítható, a tiszta termék olvadáspontja 163-165 C°, súlya 2,3 g (65%).

<u>Összeképlet:</u> $C_{17}H_{21}O_5N_3$		<u>Mólsúly:</u> 347,36
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 58,6 %	C 58,6 %
	H 7,0 %	H, 6,4 %
	O 22,9 %	O 22,6 %

Ftalil-DL-glutaminsav- γ -2-dietilamino-
etilamid

20,72 g (0,08 mol) fthalil-DL-glutaminsav anhidridet 100 ml abs. dioxánban oldunk fel. Az oldathoz 9,28 g = 11,3 ml (0,08 mol) 2-dietilamino-etilamint csepegetünk. Az anyag olaj alakjában válik ki, de hűtőszekrényben 2-3 nap alatt átkristályosodik. A kristályokat kiszűrjük, éterrel mossuk, szárítjuk. A nyerste termék súlya 25 g, olvadáspontja elhúzódó. Metanolból átkristályosítható. A tiszta termék súlya 18 g (60 %) op. 182-184 °C.

<u>Összeképlet:</u>	$C_{19}H_{25}O_5N_3$	<u>Mólsúly:</u> 375,41
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 60,8 %	C 61,1 %
	H 6,7 %	H 7,0 %

Ftalil-L-glutaminsav-anhidrid

5,44 g (0,02 mol) fthalil-L-glutaminsavat 20 ml ecetsavanhidridben 4 percig 100 °C-on melegítünk, gyorsan lehűtjük az oldatot s a kristálykiválást 100 ml éterrel tesszük teljessé. Egy éjjel állás után szűrjük, néhányszor abs. éterrel mossuk. A termék súlya 4 g (85 %) op. 200 °C
 $[\alpha]_D^{20} = -42,0$ (c=2, dioxán)

<u>Összeképlet:</u>	$C_{13}H_9O_5N$	<u>Mólsúly:</u> 259,2
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 60,2 %	C 61,1 %
	H 3,5 %	H 3,3 %

Ftalil-L-glutaminsav- γ -2-dimetilamino-etilamid

Az anyag a DL-származéknál megadott előírat szerint állítható elő. Mennyiségek: 2,59 g (0,01 mol) fta/lil-L-glutaminsavanhidrid és 1,2 ml (0,011 mol) 2-dimetilamino-etilamin. Op. 206-208 C° $[\alpha]_D^{20} = -5,4^\circ$ (c = 1, víz)

Összegképlet: C₉H₁₉O₃N₃ Mólsúly: 347,36

<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 58,6 %	C 58,4 %
	H 7,0 %	H 6,4 %

DL-glutaminsav- γ -2-dietylamino-etilamid dihidroklorid

100 ml abs. etanolban 10,5 g (0,03 mol) IV.-et szuszpendálunk, s hozzáadunk 3,0 ml (0,06 mol) vízmentes hidrazinhidrátot. A szuszpenzió melegítés közben teljesen fel-tisztul. 10 percnyi forralás után az oldatot lehűtjük, kevés éterrel teljessé tesszük a kristályok kiválását, majd nuccson szűrjük. A kristályos terméket N. sósavval kezeljük, a fthalilhidrazidot kiszűrjük. A szűrletet vákuumban bepároljuk, a kapott olajat 50 ml abs. etanolban fel-oldjuk, a hidrazin-dihidrokloridot kiszűrjük. Az alkoholos oldatot vákuumban bepároljuk, néhány napig exsikkátorban szárítjuk, 20 ml abs. etanolban oldjuk fel, 20 ml abs. dioxánt és 50 ml abs. étert adunk hozzá. Az olajosan ki-vált terméket újabb néhány napon át exsikkátorban szárítjuk, majd 20 ml abs. etanollal kristályokká dörzsöljük el. A nyers termék sulya 6 g (55 %) Op. 159-161 C°. Etanol-

-metanol elegyből átkristályosítható, a tiszta termék op.-je 164-165 °C.

<u>Összegképlet:</u>	$C_{11}H_{25}O_3N_3Cl_2$	<u>Mólsúly:</u> 318,24
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 41,5 %	C 41,5 %
	H 7,9 %	H 8,0 %
	Cl 22,7 %	Cl 22,8 %

DL-glutaminsav- γ -2-dimetilamino-etilamid dihidroklorid

Előállítás az előző előírat szerint történik.

Mennyiségek: 3,47 g (0,01 mol) ftalil-DL-glutaminsav- γ -2-dimetilamino-etilamid, 1 ml (0,02 mol) vízmentes hidrazin-hidrát. Termelés 1,5 g (55 %). Op. 145 °C, átkristályosítás után 152 °C.

<u>Összegképlet:</u>	$C_9H_{21}N_2O_3Cl_2$	<u>Mólsúly:</u> 290,24
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 37,24 %	C 36,60 %
	H 7,24 %	H 7,30 %
	N 14,48 %	N 13,90 %

L-glutaminsav- γ -2-dimetilamino-etilamid dihidroklorid

Az anyag a DL-származéknál megadott előírat szerint állítható elő. Op. 180-184 °C. Átkristályosítás után 187 °C.

$$[\alpha]_D^{20} = +10,2^\circ \text{ (c = 1, viz)}$$

<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 37,24 %	C 37,40 %
	H 7,24 %	H 7,35 %

DL-glutaminsav- γ -2-dietilamino-etilamid- α -etilészter
dihidroklorid

0,318 g DL-glutaminsav- γ -2-dietilamino-etilamidot 10 ml metanolban oldunk, majd diazometán éteres oldatát csepegtetjük hozzá 0 C°-on. A diazometán feleslegét 5' állás után 1 csepp jégcettel reagáltatjuk el. Az oldat vákuumbepárlása után szintelen olajat kapunk, kitermelés közel kvantitatív.

<u>Összegképlet:</u>	$C_{12}H_{27}O_3N_3Cl_2$	<u>Mólsúly:</u>	332,24
<u>Analízis:</u>	számított	talált	
	C 43,3 %	C 42,5 %	
	H 8,1 %	H 7,9 %	

Ptalil-DL-glutaminsav-N-2-dietilaminoetil-imid

A. módszer

1,184 g (0,034 mol) VI.-ot 100 ml abs. kloroformban oldunk fel, 0 C°-ra hűtjük s hozzáadunk 0,31 ml (0,034 mol) klórszénsav-etilésztert. 30 percig 0 C°-on, majd egy éjjel szobahőmérsékleten tartjuk a reakciókeveréket. Az oldószert vákuumban ledesztilláljuk, a maradékot éter alatt kristályokká dörzsöljük el. A nyerstermék súlya 1 g, op. 180-190 C°. Metanol-éter elegyből átkristályosítható, a tiszta termék op.-ja 224 C° (hidroklorid). Kitermelés 70 %.

<u>Összegképlet:</u>	$C_{19}H_{24}O_4N_3Cl$	<u>Mólsúly:</u>	393,86
<u>Analízis:</u>	számított	talált	
	C 58,0 %	C 58,5 %	
	H 6,1 %	H 6,6 %	

B. módszer

0,375 g (0,01 mol) ftalil-DL-glutaminsav- γ -2-dietil-amino-etilamidot 30 ml kloroformban oldunk 0 C°-on 0,210 g (0,01 mol) DCC-t adunk az oldathoz. 1 órán át 0 C°-on, majd 1 napot szobahőn hagyjuk állni. A kivált DCU-t kiszűrjük, a szűrletet vákuumban bepároljuk és éterrel kezeljük. A DCU-t ismét kiszűrjük, a szűrlethez 1 m. mol HCl-t tartalmazó éteres sósav adunk hűtés közben, a hidroklorid olaj alakjában különül el. 3 nap hűtőszekrényben állás után átkristályosodik. Termelés 70 %, op. 195 C°. Átkristályosítás után op. 222-223 C°.

<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 58,0 %	C 57,8 %
	H 6,1 %	H 6,4 %

C. módszer

30 ml abs. dioxán és 10 ml abs. kloroform elegyében 0,375 g (0,01 mol) ftalil-glutaminsav- γ -2-dietilamino-etilamidot oldunk, majd 0,13 ml ecetsavanhidridet adva hozzá, vízfürdőn 1 órán át melegítjük. Az oldat vákuumbepárlása után a végtermék acetátja kristályosan marad vissza. Op. 200-213 C°. Etanolból átkristályosítható, op. 215-216 C°. Termelés 90 %.

<u>Összegképlet:</u>	$C_{21}H_{27}O_6N_3$	<u>Mólsúly:</u> 417,45
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 59,7 %	C 60,1 %
	H 6,38 %	H 6,2 %
	N 9,95 %	N 10,3 %

Ftalil-DL-glutaminsav-N-2-dimetilaminoetil-imid

Előállítási módszere teljesen azonos az előző elő-
íratban közölt A. módszerrel. A hidroklorid olvadáspontja
206-207 °C.

<u>Összegképlet:</u>	$C_{17}H_{20}O_4N_3Cl$	<u>Mólsúly</u>	365,80
<u>Analízis:</u>	számított	talált	
	C 55,7 %	C 56,3 %	
	H 5,8 %	H 5,5 %	
	Cl 9,7 %	Cl 9,3 %	

Ftalil-DL-glutaminsavimid

A. módszer

3,47 g ftalil-DL-glutaminsav- γ -2-dimetilamino-
-etilamidot olajfürdőn megömlesztünk, s fél órán át
200 °C-on tartjuk. Az anyag barnára szineződik, lehűtve
megdermed. Metanolban feloldjuk az anyagot, az oldatot
csontszénnel derítjük, az oldószert vákuumban lepároljuk.
A visszamaradt olajat etanolban oldjuk fel, étert adunk
hozzá zavarosodásig és jégszekrénybe tesszük. A nyers-
termék súlya 1,5 g (60 %), op. 270 °C. Jégecetből átkris-
tályosítva op. 271 °C.

<u>Összegképlet:</u>	$C_{13}H_{10}O_4N_2$	<u>Mólsúly:</u>	258,23
<u>Analízis:</u>	számított	talált	
	C 60,3 %	C 61,2 %	
	H 3,9 %	H 4,1 %	

B. módszer

1,04 g ftalil-DL-glutaminsavanhidridet 0,28 g hidroxilamin-hidrokloriddal elporítunk, s a keveréket megömlesztjük. A nyersterméket a fenti előírat szerint tisztítjuk. Termelés 0,8 g, op. 271 C°.

<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 60,3 %	C 60,8 %
	H 3,9 %	H 4,2 %

Ftalil-DL-glutaminsav- γ -2-dimetilamino-etilamid-
- α -p.nitrofenilészter acetát

1,04 g (0,003 mol) ftalil-DL-glutaminsav- γ -2-dimetilamino-etilamidot 100 ml kloroformban oldunk, majd 0,175 ml (0,003 mol) jégecetet adunk hozzá. Az oldathoz 0 C°-on keverés közben 0,47 g (0,0033 mol) p.nitrofenolt és 0,62 g (0,003 mol) DCC-t adunk. 1 órát 0 C°-on, majd 4 órát szobahőn kevertetjük az oldatot, a DCU-t kiszűrjük, a kloroformot vákuumban ledesztilláljuk. Az olajat forró metanolban oldjuk fel, a nem oldódó DCU-t kiszűrjük, az aktiv észter 0 C°-on kevés DCU szennyezéssel együtt kristályosodik. Utóbbtól csak többszörös metanolból való átkristályosítással szabadulhatunk meg. A tiszta termék olvadáspontja 170-172 C°. Kitermelés 40 %.

<u>Összegképlet:</u>	C ₂₅ H ₂₈ O ₉ N ₄	<u>Mólsúly:</u> 528,5
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 56,8 %	C 58 %
	H 5,3 %	H 6,0%

Tozil-L-piroglutamil-L-glutaminsav-dibenzilészter

3 g (0,01 mol) tozil-L-piroglutaminsav-kloridot és 3,6 g (0,01 mol) L-glutaminsav-dibenzilészter hidrokloridot 50 ml kloroformban oldunk, s választótölcsérben 50 ml 5 %-os Na HCO_3 oldattal addig rázogatjuk, míg az intenzív CO_2 -fejlődés meg nem szűnik (15'). A két fázist elválasztjuk, majd a kloroformos fázist újabb 50 ml 5%-os NaHCO_3 oldattal rázzuk. A kloroformos fázist Na_2SO_4 -on szárítjuk, az oldat bepárlása után nyert olajat 50 ml abs. etanolban melegen oldjuk, lehütjük, a kivált kristályokat kiszűrjük, etanollal mossuk, szárítjuk. Termelés 4,6 g (77 %), op. 110-115 C°. Etanolból átkristályosítva op. 123 C°. $[\alpha]_D^{20} = +10,5^\circ$ (c = 1, kloroform).

<u>Összegképlet:</u>	$\text{C}_{31}\text{H}_{32}\text{O}_8\text{N}_2\text{S}$	<u>Mólsúly:</u> 592,65
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 62,8%	C 62,4 %
	H 5,4%	H 5,5 %
	S 5,4%	S 5,6 %

Tozil-L-glutamil-(γ -2-dimetilamino-etilamid)-L-glutaminsav-bis(N.N'-2-dimetilaminoetil)-amid

5,92 g (0,01 mol) előbbi terméket 10 ml 2-dimetilamino-etilaminban oldunk, 3 órán át 80 C°-on melegítjük. A kivált kristályos anyagot petroléterrel eldörzsöljük, a kapott kristályokat kiszűrjük, 3 x 50 ml petroléterrel mossuk, szárítjuk. A nyerstermék súlya 4 g (57 %), olva-

dáspontja 200-210 C°. A termék acetonból átkristályosítható, a tiszta termék olvadáspontja 223-225 C°. $[\alpha]_D^{20} = -37,1^\circ$ (c = 2, viz)

<u>Összéképlet:</u>	$C_{33}H_{60}N_8O_6S$	<u>Mólsúly:</u> 696,93
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 56,8 %	C 57,4 %
	H 8,6 %	H 8,9 %
	N 16,0 %	N 17,2 %

Tozil-L-glutamil-(γ -2-dietilamino-etilamid)-L-glutaminsav-bis(N.N'-2-dietilaminoetil)amid

Az anyag az előző származéknál megadott módon állítható elő, tozil-L-pirolglutamil-L-glutaminsav-dibenzilészterből és 2-dietilamino-etilaminból. A tiszta termék olvadáspontja 204-206 C°, $[\alpha]_D^{20} = -31,8^\circ$. Termelés 60 %.

<u>Összéképlet:</u>	$C_{35}H_{64}N_8O_6S$	<u>Mólsúly:</u> 724,98
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 58,0 %	C 57,6 %
	H 8,8 %	H 8,9 %
	N 14,0 %	N 15,7 %

L-glutamil-(γ -2-dimetilamino-etilamid)-L-glutaminsav-bis(N.N'-2-dimetilaminoetil)amid tetrahidroklorid

1,4 g (0,002 mol) XV. vegyületet 100 ml-es, háromnyaku lombikban kondenzált 50 ml. ammóniában oldunk, keverés közben kb. 0,4 g nátriumot adagolunk az oldathoz, 5 cg-os

adagokban. A nátrium fölöslegét kevés ammóniumacetáttal reagáltatjuk el, majd az ammóniát keverés közben elpárologtatjuk. Az ammónia nyomait 30-40 C°-on vákuumban távolítjuk el. A lombikot 0 C°-ra hűtjük és 50 ml vízben feloldjuk a maradék amorf port. Az oldatot megsűrjük, a szűrlethez 5 g NH₄⁺-ciklusú Amberlite-IRC.50 ioncserélő műgyantát adunk. 30 perc rázatás után a műgyantát kiszűrjük, 2 x 20 ml vízzel 30-30 percig mossuk, a mosóvizeket s az eredeti oldatot egyesítjük. A kapott 90 ml oldatot Dowex-2 (OH⁻-ciklus) ioncserélő műgyantából készült oszlopon bocsátjuk keresztül (10 cm x 1 cm², átfolyási sebesség 1 ml/perc). Az oszlopot 50 ml vízzel mossuk. Az oldatokat egyesítjük, vákuumban 30 C°-on bepároljuk. A kapott olajat etanolban oldjuk fel, bepároljuk, majd ismét etanolban oldunk, s a végterméket ekvivalens mennyiségű éteres sósavval csapjuk ki. Termelés 0,9 g (70 %). $[\alpha]_D^{20} = +7,5^\circ$ (c = 1, viz)

<u>Összegképlet:</u> C ₂₆ H ₅₈ O ₂ N ₈ Cl ₄		<u>Mólsúly:</u> 640,61
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 48,8 %	C 50,1 %
	H 9,1 %	H 8,5 %
	N 17,6 %	N 19,0 %

L-glutaminsav-di-terc.-butilészter hidroklorid

500 ml-es nyomásálló lombikban 14,7 g (0,1 mol) L-glutaminsavat 100 ml abs. dioxánban szuszpendálunk, 6 C°-ra hűtjük és 10 ml cc. kénsavat, majd 150 ml izobutilént adunk a keverékhez. A lombikot légmentesen lezárjuk, az elegyet a glutaminsav föloldódásáig rázatjuk, majd 48 óráig

állni hagyjuk. Az izobutilén elpárolgatatása után az oldatot 200 ml 2N NaOH és 400 ml éter elegyében öntjük jeges hűtés és keverés közben. A két fázis elválasztása után a vi-
zes fázist 3 x 100 ml éterrel extraháljuk. Az egyesített
éteres oldatokat Na_2SO_4 -on szárítjuk, 50 ml-re bepároljuk
s ekvivalens mennyiségű éteres sósavat adunk hozzá. A kris-
tálykiválást petroléterrel tesszük teljessé. A nyerste-
mék sulya 9,5 g (35 %) op. 108-110 °C, etanol-éter elegyből át-
kristályosítva op. 115 °C. $[\alpha]_D^{20} = + 18,2^\circ$ (c = 2 etanol)

Összegképlet: $\text{C}_{13}\text{H}_{26}\text{O}_4\text{NCl}$ Mólsúly: 295,81

<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 52,8 %	C 53,1 %
	H 8,8 %	H 9,0 %

Karbobenziloxi-L-pirolutamil-L-glutaminsav-

α -terc. butil- γ -benzil-észter.

A. módszer

0,444 g (0,001 mol) karbobenziloxi-L-pirolutaminsav
diciklohexilammónium só 5 ml kloroformban, ill. 0,330 g
(0,001 mol) L-glutaminsav- α -terc. butil- γ -benzilésztert 4 ml
abs. tetrahidrofuranban oldunk. Az oldatokat 0 °C-ra lehüt-
jük, összeöntjük. 4 óra állás után a diciklohexilamin hid-
rokloridot kiszűrjük. A szűrletet -10 °C-ra hűtjük le, ke-
verés közben 0,210 g (0,001 mol) DCC-t adunk hozzá, 3 ml
tetrahidrofuranban oldva. 1 órát kevertetjük -10 °C-on,
majd 1 éjjel szobahőn hagyjuk állni a keveréket. A DCU-t
kiszűrjük, a szűrletet bepároljuk, a kapott olajat 10 ml

éterben oldjuk fel. Egy éjjel állás után a kivált DCU-t kiszűrjük, az éteres oldatot vákuumban bepároljuk. A végtermék szintelen olaj, $[\alpha]_D^{20} = -12,6^\circ$ (c = 2, etanol)

<u>Összegképlet:</u>	$C_{29}H_{34}O_8N_2$	<u>Mólsúly:</u> 538,58
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 64,6 %	C 65,5 %
	H 6,3 %	H 6,5 %

B. módszer:

0,260 g (0,001 mol) karbobenziloxi-L-piroglutaminsavat 5 ml abs. tetrahidrofuránban oldunk, -15°C -on 0,135 ml (0,001 mol) trietilamint és 0,10 ml (0,001 mol) klórszénsav-etilésztert csepegetünk az oldathoz. 30' keverés után a vegyes anhidridhez 0°C -on 0,330 g (0,001 mol) L-glutaminsav- α -terc.-butil- γ -benzilészter hidrokloridot adunk 5 ml abs. tetrahidrofuránban oldva. Ujabb 0,135 ml trietilamint adunk a reakciókeverékhez, s egy órán át 0°C -on, majd egy éjjel szobahőn hagyjuk állni. A trietilamin hidrokloridot kiszűrjük, a szűrletet vákuumban bepároljuk. Az olajat 30 ml etilacetátban oldjuk fel, s 2 x 15 ml 5 %-os NaHCO_3 , 2 x 15 ml M. citromsav oldattal, végül 2 x 15 ml vízzel mossuk, Na_2SO_4 -on szárítjuk. Az etilacetátot ledesztilláljuk, a végtermék szintelen olaj, kitermelés 85 %. $[\alpha]_D^{20} = -12,2^\circ$ (c = 2, etanol)

<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 64,6 %	C 63,5 %
	H 6,3 %	H 6,5 %



Karbobenziloxi-L-pirolglutamil-L-glutaminsav-
di-terc.-butilészter

Ez az anyag az előző vegyület előállításánál ismer-
tetett A. és B. módszer szerint állítható elő. Termelés:
A. módszerrel 95 %, B. módszerrel 90 %. Végtermék szinte-
len olaj, $[\alpha]_D^{20} = -14,3^\circ$ (c = 2, etanol)

<u>Összegképlet:</u>	$C_{26}H_{36}O_8N_2$	<u>Mólsúly:</u> 504,57
<u>Analízis:</u>	számított	talált:
	C 61,9 %	C 62,5 %
	H 7,2 %	H 7,8 %

Karbobenziloxi-L- γ -metil-glutamil-L-glutaminsav-
- α -terc.-butil- γ -benzilészter

A vegyület az előző dipeptidek előállítására közölt
A. módszer szerint állítható elő. Kiindulási anyagok: 0,294g
(0,001 mol) karbobenziloxi-L-glutaminsav- γ -metilészter és
0,330 g (0,001 mol) L-glutaminsav- α -terc.-butil- γ -benzil-
észter hidroklorid. A végtermék petroléterrel dörzsölgetve
kristályosodik, a nyerstermék olvadáspontja 40-44 C°, éter-
-petroléterelegyből átkristályosítva op. 55 C°. Terme-
lés 85 %. $[\alpha]_D^{20} = -20,7^\circ$ (c = 1, etanol)

<u>Összegképlet:</u>	$C_{30}H_{38}O_9N_2$	<u>Mólsúly:</u> 570,62
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 63,1 %	C 62,3 %
	H 6,7 %	H 6,4 %

Karbobenziloxi-L- γ -metil-glutamil-L-glutaminsav-
-di-terc.-butilészter

A vegyület a már tárgyalt A. és B. módszerrel állítható elő. Kiindulási anyagok: 0,294 g (0,001 mol) karbobenziloxi-L-glutaminsav- γ -metilészter és 0,296 g (0,001 mol) glutaminsav-di-terc.-butilészter hidroklorid. A végtermék szintelen olaj. Kitermelés 85-90 %. $[\alpha]_D^{20} = -21,5^\circ$ (c = 1, etanol)

<u>Összeképlet:</u>	$C_{27}H_{40}O_9N_2$	<u>Mólsúly:</u> 536,61
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 60,3 %	C 58,6 %
	H 7,5 %	H 7,0 %

Karbobenziloxi-L-glutamil-L-glutaminsav- α -terc.
butilészter

0,57 g (0,001 mol) karbobenziloxi-L- γ -metil-glutamil-L-glutaminsav- α -terc.butil- γ -benzilésztert 3 ml acetonban oldunk s 2,2 ml N.NaOH-t adunk az oldathoz. Egy órán át szobahőn kevertetjük az elegyet, majd az acetont vákuumban ledesztilláljuk, s a vizes oldatot 10 ml-re hígítjuk. 2 x 5 ml éterrel extraháljuk, N.HCl-val pH 4-ig savanyítjuk, a kicsapódott olajat 3 x 20 ml etilacetáttal extraháljuk. Az egyesített etilacetátos fázist 2 x 20 ml vízzel mossuk, Na_2SO_4 -on szárítjuk, bepároljuk, a végterméket éterrel eldörzsölve kristályosítjuk. Nyers termék súly 0,35 g (70 %) op. $147^\circ C$. Alkohol-éter-petroléter elegyből átkristályosítható, op. $155^\circ C$, $[\alpha]_D^{20} = -18,6^\circ$ (c=1,

etanol)

<u>Összegképlet:</u>	$C_{22}H_{30}O_9N_2$	<u>Mólsúly:</u> 465,48
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 56,7 %	C 55,9 %
	H 6,4 %	H 5,8 %

Klieger és Gibian módszere szerint (55) elkészíthető a vegyület DCHA sója, op. 151-152 C°.

<u>Összegképlet:</u>	$C_{46}H_{76}O_9N_3$	<u>Mólsúly:</u> 829,12
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 66,5 %	C 65,7 %
	H 9,2 %	H 8,5 %

Karbobenziloxi-L-glutamil-(γ -2-dimetilamino-etilamid)
-L-glutaminsav- α -terc-butilészter- γ -2-dimetilamino-
etilamid

A. módszer

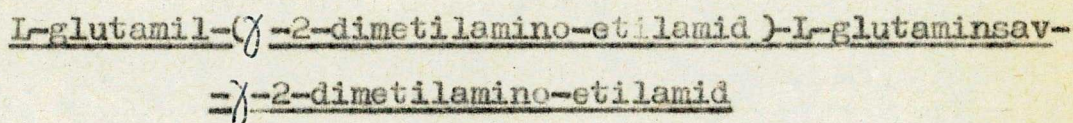
2 g karbobenziloxi-L-pirolglutamil-L-glutaminsav- α -terc-butyl- γ -benzilésztert 10 ml 2-dimetilamino-etilaminban oldunk. Egy éjjel állás után az amin fölöslegét vákuumban ledesztilláljuk, az olajat petroléterrel kristályokká dörzsöljük el, szűrjük, többször mossuk petroléterrel, majd etanol-aceton-éter elegyből átkristályosítjuk. A végeredményt kevés amin szennyezi. Termelés 50 %, $[\alpha]_D^{20} = -27,5^\circ$ (c = 1, viz) op. 120-123 C°

<u>Összegképlet:</u>	$C_{30}H_{50}O_7N_7$	<u>Mólsúly:</u> 606,75
<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 59,3 %	C 58,1 %
	H 8,3 %	H 9,6 %

B. módszer

0,465 g (0,001 mol) karbobenziloxi-L-glutamil-L-glutaminsav- α -terc. butilésztert 10 ml abs. tetrahidrofuranban oldunk, -15°C -ra hűtjük, 0,27 ml (0,002 mol) trietilamint és 0,20 ml (0,002 mol) klórszénsav-etilésztert adunk az oldathoz. 30' után a trietilamin hidrokloridot kiszűrjük, s 0°C -on a vegyes anhidridhez keverés mellett 0,22 ml (0,002 mol) 2-dimetilamino-etilamint adunk, 5 ml tetrahidrofuranban oldva. Egy órán át 0°C -on, további nyolc óráig szobahőn az elegyet állni hagyjuk. Az oldószert vákuumban ledesztilláljuk, az olajat éter alatt kristályosítjuk. A nyerstermék higroszkópos, op $92-96^{\circ}\text{C}$. Aceton-éter elegyből átkristályosítható, op. $123-125^{\circ}\text{C}$. Termelés 75 %, $[\alpha]_D^{20} = -33,2^{\circ}$ (c = 1, viz)

<u>Analízis:</u>	számított	talált
	C 59,3 %	C 59,1 %
	H 8,3 %	H 7,8 %



1,21 g (0,002 mol) előbbi terméket 60 ml metanolban feloldunk, s 0,4 g (10 % Pd. tartalmu) Pd-csontszén katalizátor jelenlétében hidrogenolízisnek vetjük alá. A katalizátort kiszűrjük, a szüredéket vákuumban bepároljuk. Az olajat 10 ml trifluorecetsavban oldjuk fel, 15 percig szobahőn hagyjuk állni, majd a trifluorecetsavat vákuumban

ledesztilláljuk. A visszamaradt olajat 10 ml etanolban feloldjuk, a végtermék trifluoracetátját éterrel csapjuk ki. A higroszkópos anyagot 25 ml vízben feloldjuk, 4 g OH⁻-ciklusú Dowex-2. anioncserélő gyantával kezeljük, a vizes oldatot 30 C^o-on bepároljuk. Az olajat etanolban feloldjuk, a végterméket éterrel csapjuk ki. Termelés 0,4 g (45 %),

$$[\alpha]_D^{20} = +5,4^{\circ} (c = 2, \text{ etanol})$$

Összegképlet: C₁₈H₃₆O₅N₇

Mólsúly: 430,5

Analízis:

számított

talált

C 50,2 %

C 50,4 %

H 8,3 %

H 7,15 %

I r o d a l o m

- 1.) E. Katschalski, M. Sela: Adv. Protein Chemistry
14, (1959).
- 2.) K. Kovács, A. Kótai: Acta Chim. Hung. 21, 453 (1959).
- 3.) Kovács Kálmán: Doktori értekezés (1962).
- 4.) K. Kovács, A. Kótai, I. Szabó: Nature 185, 266 (1960).
" 192, 190 (1961).
- 5.) N. Jancsó, K. Kovács: Acta Physiol. Hung. 205, 40
(1962).
- 6.) E. King, D. Kidd: J. Chem. Soc. 1949, 3315.
- 7.) J. Sheehan, V. Frank: J. Am. Chem. Soc. 71, 1856
(1949).
- 8.) Th. Wieland, H.L. Weidenmüller: Annalen 597, 111
(1955).
- 9.) H.R. Ing, R.H.F. Manske: J. Chem. Soc. 1926, 2348.
- 10.) M. Friedmann, R. Chatterji: J. Am. Chem. Soc. 81,
3750 (1959).
- 11.) W. J. Le Quesne, G.T. Young: J. Chem. Soc. 1962, 594.
- 12.) T. Shiba, T. Kaneko: Bull. Chem. Soc. Jap. 33, 1721
(1960).
- 13.) G.H.L. Nefkens: Nature 185, 309 (1960).
Rec. Trav. Chim. 79, 688 (1962).
- 14.) R.A. Boissonnas: Helv. Chim. Act. 34, 874 (1951).

- 15.) J.R. Vaughan: J. Am. Chem. Soc. 73, 3547 (1951).
- 16.) T. Wieland, B. Heinke: Annalen 599, 70 (1956).
- 17.) M. Bodánszky, V. du Vigneaud: J. Am. Chem. Soc. 81, 5688 (1959).
- 18.) J. C. Sheehan, G. P. Hess: J. Am. Chem. Soc. 77, 1067 (1955).
- 19.) S. Goldschmidt, H. Lautenschlager: Annalen 580, 68 (1953).
- 20.) V. Bruckner, J. Kovács: MTA. Kém. Tud. Oszt. Közl. 3, 105 (1953).
- 21.) J. Kovács, K. Medzihradszky, V. Bruckner: Acta Chim. Hung. 6, 183 (1955).
- 22.) A.R. Battersby, J.C. Robinson: J. Chem. Soc. 1956, 2076.
- 23.) E. Katschalski, M. Sela: Adv. Protein Chemistry 13, 243 (1958).
- 24.) V. Bruckner, J. Kovács: Acta Chim. Hung. 12, 363 (1957).
- 24.) a) V. Bruckner, K. Kovács, A. Kótai: Acta Chim. Hung. 21, 427 (1959).
- 25.) V. Bruckner, J. Kovács, K. Medzihradszky: Naturwiss. 41, 450 (1954).
- 26.) V. Bruckner, et al: Tetrahedron 2, 211 (1958).
- 27.) V. Bruckner, J. Kovács, K. Medzihradszky: Naturwiss. 42, 96 (1955).
- 28.) a) D.W. Clayton, G.W. Kenner: Chem. Ind. 1953, 1205.

- 28.) b) D.W. Clayton, G.W. Kenner, R.C. Sheppard: J. Chem. Soc. 1956, 371.
- 29.) a) J. Kovács, I. Könyves: Naturwiss. 41, 333 (1954).
- b) J. Kovács, I. Könyves, J. Császár: ibid. 41, 575 (1954).
- c) J. Kovács, H. Mix: ibid. 43, 447 (1956).
- 30.) J. Kovács et al: J. Org. Chem. 26, 1084 (1961).
- 31.) I.M. Lockhardt, E.P. Abraham: Biochem. J. 62, 645 (1956).
- 32.) M.A. Naughton et al: Biochem. J. 77, 14 (1960).
- 33.) a) E. Sondheimer, R.W. Holley: J. Am. Chem. Soc. 76, 2467 (1954).
- b) ————, ————: ibid. 79, 3767 (1957).
- 34.) A.R. Battersby, J.C. Robinson: J. Chem. Soc. 1955, 259.
- 35.) L.A. Bernhard et al: J. Am. Chem. Soc. 84, 2421 (1962).
- 36.) A.J. Adler, G.D. Fasman, B.R. Blout: J. Am. Chem. Soc. 85, 90 (1963).
- 37.) R. Schwyzer et al: Helv. Chim. Acta 44, 1991; 2003 (1961).
- 38.) W. Kunz, H. Keller, H. Mächter: Arzneim.-Forsch. 6, 426 (1956).
- 39.) W. Lenz: Deutsch. med. Wschr. 86, 2555 (1961).

- 40.) a) J.W. Faigle et al: Experientia 18, 389 (1962).
b) R. Beckmann: Arzneim.-Forsch. 13, 185 (1963).
- 41.) S. Furberg: Acta Chem. Scand. 19, 1266 (1965).
- 42.) a) W.A. Zygmunt, W.T. Comer: J. Pharm. Sci. 53,
1284 (1964).
b) T. Midvedt: Acta Pathol. Microbiol. Scand. 58,
355 (1963).
- 43.) a) M. Bianchi, F. Barzeghi: Farmacol 20, 611; 763
(1965).
b) M. Menard et al: Canad. J. Chem. 41, 1722 (1963).
- 44.) W. Grassmann, B. Wünsch: Fortschr. Chem. Org. Natur-
stoffe, 13, 466 (1956).
- 45.) a) N. Lichtenstein: J. Am. Chem. Soc. 64, 1021 (1942).
b) Y. Sakato et al: Nippon Kagaku Zasshi, 23, 269
(1950).
- 46.) a) J. Rudinger: Coll. Czech. Chem. Commun. 19, 365
(1954).
b) A.F. Beecham: J. Am. Chem. Soc. 76, 4615 (1954).
c) J.M. Swan, V. du Vigneaud: ibid. 76, 3110 (1954).
d) R.J. Stedman: ibid. 79, 4691 (1957).
e) O. Gawron, P. Draus: J. Org. Chem. 24, 1392 (1959).

- 47.) a) T. Shiba: J. Chem. Soc. (Japan) 80, 492 (1959).
b) C.R. Harrington, R.C.G. Moggridge: J. Chem. Soc.,
1940, 706.
c) H. Gibian, E. Klieger: Annalen 640, 145 (1961).
- 48.) V. du Vigneaud, O.K. Behrens: J. Biol. Chem. 117,
26 (1937).
- 49.) F.H.C. Stewart: Austral. J. Chem. 18, 1095 (1965).
- 50.) E. Taschner et al: Annalen 646, 130 (1961).
- 51.) G.W. Anderson, F.M. Callahan: J. Am. Chem. Soc. 82,
3359 (1960).
- 52.) S. Bajusz, T. Lázár, Z. Paulay: Acta Chim. Hung. 41,
329 (1964).
- 53.) E. Klieger, H. Gibian: Annalen 651, 195 (1962).
- 54.) a) E. Schröder, E. Klieger, H. Gibian: Annalen 646,
110 (1961).
b) S.A. Bernhard et al: J. Am. Chem. Soc. 84, 2421
(1962).
- 55.) E. Klieger, H. Gibian: Annalen 640, 157 (1961).

T A R T A L O M J E G Y Z É K

	oldal
RÖVIDÍTÉSEK	1
BEVEZETÉS	3
I. ELMÉLETI RÉSZ	9
a) Dialkil-poliantin monomerek előállítására . .	9
b) Kisérletek dipeptid-modellvegyületek előállít- ására. (Tercier amino-csoportot tartalmazó glutaminsav származékok különleges reakciói.)	14
c) A dimetil-poliantin dipeptid-modellvegyüle- teinek szintézise	21
d) Összefoglalás	34
II. KISÉRLETI RÉSZ	35
IRODALOM	55

Köszönetemet fejezem ki Dr. Kovács Kálmán egyetemi tanárnak a témáért és a disszertációm megírásában nyújtott segítségért. Köszönettel tartozom Dr. Kótai András egyetemi adjunktusnak és Dr. Matkovics Béla egyetemi docensnak állandó támogatásaikért és tanácsaikért. Az analizisekért az Intézet Mikroanalitikai Laboratóriumának mondok köszönetet.

