



NORGE

(12) **UTLEGNINGSSKRIFT**

(19) NO

(11) **179747**

(13) B

(51) Int Cl⁶ C 07 C 281/06, C 07 K 1/00

Styret for det industrielle rettsvern

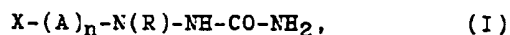
(21) Søknadsnr	920312	(86) Int. inng. dag og søknadsnummer	
(22) Inng. dag	23.01.92	(85) Videreføringsdag	
(24) Løpedag	23.01.92	(30) Prioritet	24.01.91, DE, 4102015
(41) Alm. tilgj.	27.07.92		
(44) Utlegningsdato	02.09.96		

(71) Søker	Hoechst AG, D-65926 Frankfurt am Main, DE
(72) Oppfinner	Patrice Talaga, Brussel, BE
	Wolfgang König, Hofheim, DE
(74) Fullmektig	Bryns Patentkontor AS, 0106 OSLO

(54) Benevnelse **Fremgangsmåte for fremstilling av alkylerte azaglycinderivater**

(56) Anførte publikasjoner Ingen

(57) Sammendrag En fremgangsmåte for fremstilling av alkylerte azaglycinderivater med formel I.

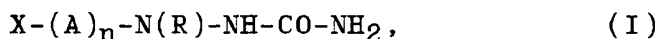


er beskrevet, hvori X betyr en aminobeskyttelsesgruppe, C₁-C₈-alkanoyl, C₆-C₁₄-arylkarbonyl eller C₆-C₁₄-aryl-C₁-C₄-alkanoyl; A betyr eventuelt på tredjefunksjonen beskyttet aminosyre- eller iminosyrerester; n betyr 0-10, der X betyr C₁-C₈-alkanoyl, C₆-C₁₄-arylkarbonyl eller C₆-C₁₄-aryl-C₁-C₄-alkanoyl, dersom n = 0, og R betyr C₁-C₈-alkyl, C₆-C₁₄-aryl-C₁-C₄-alkanoyl eller C₅-C₁₂-heteroaryl-C₁-C₄-alkanoyl, som er kjennetegnet ved at man omsetter en forbindelse med formel X-(A)_n-NH-NH-CO-NH₂, der X, A og n har ovennevnte betydning, med en primær eller sekundær alkohol og DEAD i overskudd samt et tri-C₁-C₆-alkylfosfin, tri-C₆-C₁₄-arylfosfin eller pyridyl-di-C₆-C₁₄-arylfosfin, der aryl delen eventuelt kan være substituert med di-C₁-C₄-alkylamino, i en eter ved 0°C til 30°C, og avspalter eventuelt aminobeskyttelsesgruppe X, forutsatt at ved anvendelse av tri-n-butylfosfin, er X ikke Fmoc.

Foreliggende oppfinnelse vedrører en fremgangsmåte for fremstilling av alkylerte azaglycinderivater. Redox kondensasjonssystemer diethylazodikarboksylsyre (DEAD) -trifenylfosfin (TPP), bedre kjent som Mitsunobu-systemet, er en meget
 5 anvendt metode for alkyleringsreaksjoner (eksempelvis på imider, heterocykliske strukturer osv.) (O. Mitsunobu, Synthesis 1981, 1). Primære og sekundære amider kan derimot ikke bli alkylert ved hjelp av dette systemet (S. Bittner et al., J. Org. Chem. 1985, 50, 1712).

10 Det ble overraskende oppdaget at acylerte azaglycinderivater kun blir alkylert ved hjelp av Mitsunobu-reaksjonen.

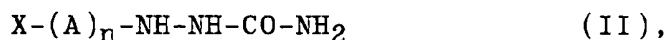
Gjenstand for oppfinnelsen er dermed en fremgangsmåte for
 15 fremstilling av alkylerte azaglycinderivater med generell formel I,



hvor i

- 20 X betyr en aminobeskyttelsesgruppe, valgt blant Fmoc, Boc eller benzyloksykarbonyl, C₁-C₈-alkanoyl, C₆-C₁₄-arylkarbonyl eller C₆-C₁₄-aryl-C₁-C₄-alkanoyl,
 A betyr eventuelt i tredjefunksjonen beskyttet aminosyre- eller iminosyrerester,
 25 n 0-10, der X betyr C₁-C₈-alkanoyl, C₆-C₁₄-arylkarbonyl eller C₆-C₁₄-aryl-C₁-C₄-alkanoyl, dersom n = 0, og
 R betyr C₁-C₈-alkyl, C₆-C₁₄-aryl-C₁-C₄-alkanyl eller pyridyl-C₁-C₄-alkanyl,

kjennetegnet ved at man omsetter en generell forbindelse med
 30 formel II,



der X, A og n har ovennevnte betydning, med en primær eller
 35 sekundær alkohol og DEAD i overskudd samt et tri-C₁-C₆-alkylfosfin, tri-C₆-C₁₄-arylfosfin eller pyridyl-di-C₆-C₁₄-arylfosfin, der aryldelen eventuelt kan være substituert med

di-C₁-C₄-alkylamino, i en eter ved 0°C til 30°C og eventuelt avspalter aminobeskyttelsesgruppen X, forutsatt at ved anvendelsen av tri-n-butylfosfin betyr X ikke Fmoc.

5 Under fosfinderivater anvendes fortrinnsvis trifenyfosfin, tri-n-butyl-fosfin, p-dimetyl-aminpfenyl-difenyfosfin (M. von Itzstein et al., Synth. Comm. 1990, 20, 2049), pyridyl-difenyfosfin (Ibid) og polymerbundet trifenyfosfin (R.A. Amos, J. Org. Chem. 1983, 48, 3598), spesielt trifenyfosfin.

10

Alkoholer anvendt for alkyleringen utgjør fortrinnsvis primær og sekundær C₁-C₁₈-alkylalkanol, som f.eks. metanol, etanol, C₆-C₁₄-aryl-C₁-C₄-alkanol, som f.eks. benzylalkohol, naftyl-C₁-C₄-alkanol eller C₅-C₇-heteroarylalkoholer, som f.eks.
 15 pyridyl-C₁-C₄-alkanol, idet aryl- og heteroarylalkoholene kan være substituert i den aromatiske ringen også med halogen, som fluor, klor, brom eller jod, C₁-C₆-alkyl eller C₁-C₆-alkoksy.

20 En aminosyre som nevnt ovenfor, utgjør alle naturlige eller unaturlige aminosyrer som, dersom de er chirale, foreligger i D- eller L-form. α-aminosyrene er foretrukket. Eksempelvis kan følgende nevnes:

Aad, Abu, tAbu, ABz, 2ABz, cAca, Ach, Acp, Adpd, Ahb, Aib,
 25 sAib, Ala, sAla, ΔAla, Alg, All, Ama, Amt, Ape, Apm, Apr, Arg, Asn, Asp, Asu, Aze, Azi, Bai, Bph, Can, Cit, Cys, (Cys)₂, Cyta, Daad, Dab, Dadd, Dap, Dapm, Dasu, Djen, Dpa, Dtc, Fel, Gln, Glu, Gly, Guv, hAla, hArg, hCys, hGln, hGlu, His, hIle, hLeu, hLys, hMet, hPro, hPhe, hSer, hThr, hTTrp,
 30 hTyr, Hyl, Hyp, 3Hyp, Ile, Ise, Iva, Kyn, Lant, Lcn, Leu, Lsg, Lys, sLys, ΔLys, Met, Mim, Min, nArg, Nle, Nva, Oly, Orn, Pan, Pec, Pen, Phe, Phg, Pic, Pro, ΔPro, Pse, Pya, Pyr, Pza, Qin, Ros, Sar, Sec, Sem, Ser, Thi, sThi, Thr, Thy, Thx, Tly, Tia, Tle, Trp, Trta, Tyr, Val, Nal, Tbg, Npg, Chg, Cha,
 35 Thia (jfr. f.eks. Houben-Weyl, Methoden der organischen Chemie, Band XV/1 og 2, Stuttgart 1974).

Under en iminosyre forstås generelt naturlige eller unaturlige aminosyrer, der aminogrupperne er enkeltsubstituerte. Spesielt kan i denne sammenhengen nevnes forbindelser som C₁-C₈-alkyl, som eventuelt er enkel eller dobbelt umettet, og som kan være substituert med opptil tre like eller forskjellige rester fra rekken merkaptogrupp; hydrokso; C₁-C₇-alkokso; karbamoyl; C₁-C₈-alkanoyl; karbokso; C₁-C₇-alkokso; karbonyl: F; Cl; Br; I; amino; amidino, som eventuelt kan være substituert med en, to eller tre C₁-C₆-alkylrester; guanidino, som eventuelt kan være substituert med en eller to benzyloksykarbonylrester eller med en, to, tre eller fire C₁-C₈-alkylrester; C₁-C₇-alkylamino; di-C₁-C₇-alkylamino, C₁-C₆-alkokso; karbonylamino; C₇-C₁₅-aralkokso; karbonyl; C₇-C₁₅-aralkokso; karbonylamino; fenyl-C₁-C₄-alkokso; 9-fluorenylmetokso; karbonylamino; C₁-C₆-alkylsulfonyl; C₁-C₆-alkylsulfinyl; C₁-C₆-alkyltio; hydroksamino; hydroksimino; sulfamoyl; sulfo; karboksamido; formyl; hydrazono eller iminosubstituert. Videre kommer heterocykler fra følgende gruppe i betraktning:

Pyrrolidin-2-karboksylysyre, piperidin-2-karboksylysyre, 1,2,3,4-tetrahydroisochinolin-3-karboksylysyre, dekahydroisochinolin-3-karboksylysyre, oktahydroindol-2-karboksylysyre, dekahydrochinolin-2-karboksylysyre, oktahydrocyklopenta[b]pyrrol-2-karboksylysyre, 2-aza-bicyklo[2.2.2.]oktan-3-karboksylysyre, 2-azabicyklo[2.2.1]heptan-3-karboksylysyre, 2-azabicyklo[3.1.0]heksan-3-karboksylysyre, 2-azaspiro[4.4]nonan-3-karboksylysyre, 2-azaspiro[4.5]dekan-3-karboksylysyre, spiro[(bicyklo[2.2.1]heptan)-2,3-pyrrolidin-5-karboksylysyre], spiro[(bicyklo[2.2.2.]oktan)-2,3-pyrrolidin-5-karboksylysyre], 2-azatricyklo[4.3.0.1^{6,9}]dekan-3-karboksylysyre, dekahydrocyklohepta[b]pyrrol-2-karboksylysyre, dekahydrocyklookta[b]pyrrol-2-karboksylysyre, oktahydroisochinolin-1-karboksylysyre, 2,3,3a,4,6a-heksahydrocyklopenta[b]pyrrol-2-karboksylysyre, 2,3,3a,4,5,7a-heksahydroindol-2-karboksylysyre, tetrahydrotia-
zol-4-karboksylysyre, isoksazolidin-3-karboksylysyre, pyrazolidin-3-karboksylysyre, hydroksyprolin-2-karboksylysyre, som alle eventuelt kan være substituerte.

Heterocyklene som ligger til grunn for de ovennevnte restene, kommer eksempelvis fra

US-A 4.344.949, US-A 4.374.847, US-A 4.350.704, EP-A 29.488, EP-A 31.741, EP-A 46.953, EP-A 49.605, EP-A 49.658, EP-A 50.800, EP-A 51.020, EP-A 52.870, EP-A 79.022, EP-A 84.164, EP-A 89.637, EP-A 90.341, EP-A 90.362, EP-A 105.102, EP-A 109.020, EP-A 111.873, EP-A 113.880, EP-A 271.865 og EP-A 344.682.

Under en aminobeskyttelsesgruppe forstås alle innen peptid-kjemien vanlige aminobeskyttelsesgrupper, som f.eks. acetamidometyl (Acm), 1-adamantylloksykarbonyl (Adoc), 1-(1-adamantyl)-1-metyl-etoksykarbonyl (Adpoc), allyloksykarbonyl (Aloc), tert.-butyloksykarbonyl (Boc), 1-(4-bifenyl)-1-metyletoksykarbonyl (Bpoc), α,α -dimetyl-3,5-dimetoksybenzyloksykarbonyl (Ddz), 4-dihydroksaborylbenzyloksykarbonyl (Dobz), 9-fluorenylmetyloksykarbonyl (Fmoc), Isobornyloksykarbonyl (Iboc), 1-metyl-cyklobutyloksykarbonyl (Mboc), 4-metoksybenzyloksykarbonyl (Moc), metylsulfonyletoksykarbonyl (Msc), 2-fosfonioetoksykarbonyl (Peoc), fenylsulfonyletoksykarbonyl (Pse), 4-pyridylmetoksykarbonyl (Pyoc), 2,2,2-trikloro-tert.-butyloksykarbonyl (Tcboc), toluolsulfonyletoksykarbonyl (Tse), benzyloksykarbonyl (Z), halogensubstituert benzyloksykarbonyl ($Z(\text{Hal}_n)$), 4-nitro-benzyloksykarbonyl ($Z(\text{NO}_2)$) (se også f.eks. T.W. Greene, "Protective Groups in Organic Chemistry", New York, John Wiley & Sons, 1981; A. Hubbuch, Kontakte Merck 1979, nr. 3, side 14-23). Foretrukket er Fmoc, Boc og Z. Den tredje funksjonen til amino- hhv. iminosyrer kan bli beskyttet med egnede beskyttelsesgrupper, som f.eks. beskrevet i E.E.Büllesbach, Kontakte Merck 1980, nr. 1, side 23-35, eller være glykosylerte (se f.eks. EP-A 263.521 (HOE 86/F 253)). Følgende kan spesielt nevnes: Arg(Tos), Arg(Mts), Arg(Mtr), Arg(Pmc), Asp(OBzl), Asp(OtBu), Cys(4-MeBzl), Cys(Acm), Cys(StBu), Glu(OBzl), Glu(OtBu), His(Tos), His(Fmoc), His(Dnp), His(Trt), Lys(Cl-2), Lys(Boc), Met(O), Ser(Bzl), Ser(tBu), Thr(Bzl), Thr(tBu).

C₆-C₁₄-aryl er eksempelvis fenyl, naftyl, bifenylyl eller fluorenyl; foretrukket er fenyl eller naftyl. Under C₅-C₁₂-heteroaryl forstås mono-, bi- eller tricykliske heteroaromater, som ikke inneholder sure -NH-grupper. Som eksempel kan følgende nevnes: pyrrolyl, furyl, tienyl, imidazolyl, pyrazolyl, oksazolyl, isoksalazolyl, tiazolyl, isotiazolyl, tetrazolyl, pyridyl, pyrazinyl, pyrimidinyl, indolyl, isoindolyl, indazolyl, ftalazinyl, chinolyl, isochinolyl, chinoksalinyl, chinazolinyl, kinnolinyl eller β -karbolinyl.

De alkylerte peptidene kan bli rensset ved krystallisasjon eller ved kieselgelkromatografi. Ved anvendelse av trifenyfosfin er det ved reaksjonen oppståtte trifenyfosfinoksid, ofte vanskelig å separere. Dette problemet oppstår ikke med vannoppløselige triarylfosfiner, som f.eks. p-dimetylaminofenyl-difenyfosfin. Det her oppståtte fosfinoksidderivatet lar seg meget lett separere fra lipofile forbindelser, f.eks. beksyttede alkylerte peptider, på grunn av at det er godt oppløselig i surt, vandig miljø (M. von Itzstein et al., Synth. Comm. 1990, 20, 2049). Trifenyfosfinoksid kan derimot også bli separert, idet man avspalter aminobeskyttelsesgruppen og deretter separerer de vannoppløselige saltene til de tilsvarende peptidene fra de lipofile trifenyfosfinoksider. Ved anvendelse av tri-n-butylfosfin (PBU₃) ble det fastslått at dette reagenset ikke er kompatibelt med Fmoc-beskyttelsesgruppen. Den nevnte amino-beskyttelsesgruppen blir i løpet av reaksjonen delvis avspaltet, slik at i dette tilfellet skal en basestabil beskyttelsesgruppe (som f.eks. Boc-gruppen) anvendes.

Utgangsprodukter:

a) Fmoc-Phe-azagly-NH₂(C₂₅H₂₄N₄O₄, MG 444).

Til en oppløsning av 15 g (38,76 mmol) Fmoc-Phe-OH i 70 ml DMF tilsetter man 5,43 g (1 ekv.) HOBt, 4,32 g (1 ekv.) HCl-semikarbad og 4,90 ml (1 ekv.) NAM. Man avkjøler til 0°C og tilsetter under omrøring 8,14 g (1 ekv.) DCC. Dette omrøres i en time ved 0°C, og oppløsningen blir latt stå overnatt. Deretter blir oppløsningen filtrert og rotert. Resten blir fordelt mellom AcOEt/vann. Ved ristingen faller peptidet ut. Resten blir suget av og vasket med rikelig vann, og til slutt med eter og tørket i høyvakuum. Man oppnår 13,10 g (29,50 mmol) peptid.

Den opprinnelige væsken (AcOEt-fasen) blir behandlet som vanlig (vasket med mettet NaHCO₃-oppløsning (2 ganger), vann, KHSO₄-oppløsning, vann, tørket over natriumsulfat). Den organiske fasen blir rotert, resten behandlet med eter og avfiltrert. Til slutt blir dette trøket i høyvakuum. Man oppnår ytterligere 0,92 g (2 mmol) peptid.

Utbytte: 14,02 g (31,57 mmol) = 81%

Sm.p.: 193°C

[A]_D²³: - 16,2° (c = 1 i AcOH)

b) Boc-Phe-azagly-NH₂ (C₁₅H₂₂N₄O₄, MG 322)

Til en oppløsning bestående av 30 g (113,2 mmol) Boc-Phe-OH i 100 ml DMF, tilsetter man 15,85 g (1 ekv.) HOBt, 12,61 g (1 ekv.) HCl-semikarbad og 14,33 ml (1 ekv.) NAM. Dette avkjøles ved 0°C, og man tilsetter under omrøring 23,77 g (1 ekv.) DCC. Dette omrøres i 1 time og blir latt stå over weekenden. Deretter blir oppløsningen filtrert og rotert. Resten blir fordelt mellom AcOEt og vann, den organiske fasen blir etter hverandre vasket med mettet NaHCO₃-oppløsning (3 ganger), vann, KHSO₄-oppløsning (2 ganger) og vann. Etter tørkingen blir oppløsningen rotert, resten behandlet med eter, filtrert og tørket i høyvakuum.

Utbytte: 20,31 g (63 mmol) = 57%

[α]_D²³: + 2,2° (c = 1 i AcOH)

EKSEMPEL 1

a) Fmoc-Phe-N(Me)-NH-CONH₂ (C₂₆H₂₆N₄O₄, MG 458)

5 Til 50 ml absolutt THF ved 0°C, tilsetter man 2,5 g (5,36 mmol) Fmoc-Phe-azagly-NH₂ som suspensjon, 1,83 ml (8 ekv.) MeOH, 2,96 g (2 ekv.) trifenyfosfin (PPh₃), porsjonsvis 1,773 ml (2 ekv.) dietylazodikarboksytsyre (DEAD) og etter 15 minutters omrøring ytterligere 738 mg (0,5 ekv.) PPh₃ og
10 0,443 ml (0,5 ekv.) DEAD. PPh₃ og DEAD blir etter 15 minutter tilsatt en gang til i samme mengde. Deretter innstiller man denne suspensjonen på RT og rører i 4 timer (ikke noe mer utgangsmateriale!). Denne suspensjonen blir filtrert, resten vasket med eter og tørket i høyvakuum. Man oppnår 930 mg
15 (2,03 mmol) rent N-Me derivat (36%). Deretter blir den opprinnelige væsken rotert og behandlet med eter og suget av. Dette bunnfallet inneholder den ønskede forbindelsen og trifenyfosfinoksid (POPh₃).

Sm.p.: 173-174°C.

20 $[\alpha]_D^{23} = + 27^\circ$ (c = 1 i AcOH)

b) HCl-Phe-N(Me)-NH-CONH₂ (C₁₁H₁₆N₄O₂, MG 236)

25 900 mg (1,96 mmol) rent Fmoc-Phe-N(Me)-NH-CONH₂ blir løst opp i 15 ml DMF. Deretter tilsetter man 2,16 ml (10 ekv.) Et₂NH. Dette omrøres i 15 minutter, og oppløsningen roteres inn. Resten blir behandlet med eter og filtrert. Til slutt blir forbindelsen løst opp i MeOH, med 1N HCl bragt til pH 6,40,
30 og oppløsningen blir rotert. Resten blir behandlet med eter, filtrert og tørket i høyvakuum.

Utbytte: 430 mg (1,58 mmol) = 80%

Sm.p.: 98-105°C

$[\alpha]_D^{23} = + 23^\circ$ (c = 1 i AcOH)

EKSEMPEL 2

a) Fmoc-Phe-N(Et)-NH-CONH₂ (C₂₇H₂₈N₄O₄, MG 472)

5 Til 50 ml absolutt THF tilsetter man 4 g (9 mmol) Fmoc-Phe-azagly-NH₂ som suspensjon, 4,23 ml (8 ekv.) EtOH, 4,72 g (2 ekv.) PPh₃ og 2,834 ml (2 ekv.) DEAD. I løpet av 15 minutter tilsettes ytterligere to ganger 0,5 ekv. PPh₃ (1,18 g) og DEAD (0,708 ml). Etter den andre tilsetningen, lar man
10 suspensjonen bli omrørt i 4 timer. Deretter blir oppløsningen rotert, og forbindelsen renset gjennom kieselgel-kromatografi (løpemiddel: CH₂Cl₂/AcOEt = 9/1 og CH₂Cl₂/MeOH = 9,5/0,5). Fraksjonene (med PPh₃ forurensninger) blir rotert, og resten behandlet med petroleter (PE),
15 filtrert og tørket i høyvakuum.

b) HCl-Phe-N(Et)-NH-CONH₂ (C₁₂H₁₈N₄O₂, MG 250)

20 9 mmol av ovenfor isolerte peptid (med PPh₃; regnet som 100% utbytte) blir løst opp i 20 ml DMF. Etter tilsetning av 9,90 ml (10 ekv.) Et₂NH, lar man dette røre i 30 minutter, og roterer oppløsningen. Resten blir behandlet to ganger med PE, til slutt suspenderert i en blanding AcOEt/vann og under
25 omrøring med 1N HCl bragt til pH 6,40. Deretter blir denne blandingen ristet, vannfasen vasket 3 ganger med eter, rotert (rest eter og AcOEt destillert ut), filtrert og frysetørket. Utbytte: 1,42 g (5,68 mmol) = 56%
Sm.p.: 91-94°C
30 $[\alpha]_D^{23} = + 62,5^\circ$ (c = 1 i AcOH).

EKSEMPEL 3

35 a) Fmoc-Phe-N(iPr)-NH-CONH₂ (C₂₈H₃₀N₄O₄, MG 486)

Tittelforbindelsen blir fremstilt analogt eksempel 2a.

Reagenser:

- Fmoc-Phe-azagly-NH₂: 4 g, 9 mmol
- iPrOH: 5,50 ml (8 ekv.)
- PPh₃: 4,72 g (2 ekv.)
- 5 - DEAD; 2,834 ml (2 ekv.)
- to ganger 1,18 g PPh₃ (0,5 ekv.) og 0,708 ml DEAD (0,5 ekv.)

Etter 4 timer blir oppløsningen rotert, og peptidet renses
10 gjennom kieselgel-kromatografi (løsemiddel: CH₂Cl₂/AcOEt = 9/1 og CH₂Cl₂/MeOH = 9/1). Fraksjonene (peptider med POPh₃) blir rotert, resten behandlet med PE, avfiltrert og tørket i høyvakuum.

15 b) HCl-Phe-N(iPr)-NH-CONH₂ (C₁₃H₂₀N₄O₂, MG 264)

Blanding på 9 mmol; analogt eksempel 2b.

Utbytte; 1,48 g (5,60 mmol) = 55%

20 Sm.p.: 105-110°C

EKSEMPEL 4

25 a) Boc-Phe-N(CH₂-(2-pyridyl))-NH-CONH₂ (C₂₁H₂₇N₅O₄, MG 413)

Til 50 ml absolutt THF ved 0°C tilsettes 4 g (12,42 mmol) Boc-Phe-azagly-NH₂ 4,80 ml (2 ekv.) 2-pyridyl-metanol, 6,51 g (2 ekv.) PPh₃, 3,911 ml (2 ekv.) DEAD og i løpet av 15
30 minutter ytterligere to ganger 1,63 g (0,5 ekv.) PPh₃ og 0,978 ml (0,5 ekv.) DEAD. Oppløsningen blir rørt i to timer ved 0°C og to timer ved RT. Deretter blir oppløsningen rotert, resten fordelt mellom eter og vann og hurtig avdekantert. Den organiske fasen blir stående ved 30 minutter
35 ved 0°C. Deretter blir bunnfallet filtrert ut, vasket med kald eter og tørket i høyvakuum. Man oppnår 1,41 g (3,41 mmol) ren forbindelse. Den opprinnelige væsken blir rotert og

omsatt med vann til man oppnår en fast forbindelse. Deretter blir dette bunnfallet tatt opp i CH_2Cl_2 , tørket og rotert. Denne fraksjonen blir renset gjennom kieselgel-kromatografi (løpemiddel $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 9/0,4$, deretter $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 9/1$).

5 Man oppnår 370 mg (0,89 mmol) ren forbindelse.

Utbytte: 1,78 g = 35%

$[\alpha]_D^{25}$: + 8,9° (c = 1 i AcOH)

b) 2 HCl-Phe-N(CH_2 -(2-pyridyl))-NH-CONH₂ (C₁₆H₁₉N₅O₂, MG 313)

10

1,69 g (4,09 mmol) ren Boc-Phe-N(CH_2 -(2-pyridyl))-NH-CONH₂ blir suspendert i 20 ml dioksan. Ved 0°C tilsetter man 20 ml mettet HCl-dioksanoppløsning og omrører dette i en time ved 0°C. Oppløsningen blir deretter rotert, resten fordelt mellom
15 AcOEt og vann og vannfasen ytterligere vasket to ganger med AcOEt. Deretter blir vannfasen rotert, filtrert og frysetørket.

Utbytte: 1,29 g (3,34 mmol) = 84%.

20

EKSEMPEL 5

a) Boc-Phe-N(CH_2 -(2-naftyl))-NH-CONH₂ (C₂₆H₃₀N₄O₄, MG 462)

25

Til 50 ml absolutt THF ved 0°C tilsettes 4 g (12,42 mmol) Boc-Phe-azagly-NH₂, 2,17 g (1,1 ekv.) 2-naftalenmetanol, 6,19 ml (2 ekv.) P Bu₃ og 3,911 ml (2 ev.) DEAD. Denne oppløsningen røres i 2 timer ved 0°C og ytterligere 2 timer ved RT. Til slutt blir oppløsningen rotert, resten omsatt med 100 ml PE,
30 og denne blandingen blir rørt ved 0°C i 5 minutter 10 til 20 ml eter tilsettes og et hvitt bunnfall oppnås, og dette blir filtrert. Det blir tørket i høyvakuum. Man oppnår 3,14 g peptid-derivat (forurenset med PO Bu₃). Den opprinnelige væsken blir rotert og latt stå i PE over weekenden i
35 kjølerom. Deretter blir bunnfallet suget av, vasket med kald PE og tørket i høyvakuum. Man oppnår ytterligere 1,40 g råpeptid (peptid med PO Bu₃). Denne andre fraksjonen blir til

slutt rensset ved kieselgel-kromatografi (løpemiddel; $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 9/0,5$). Fraksjonene blir sentrifugert, resten behandlet med PE, avfiltrert og tørket i høyvakuum,

Utbytte: 520 mg

5 $[\alpha]_D^{23} = + 40,1^\circ$ ($c = 1$ i AcOH)

b) $\text{HCl-Phe-N}(\text{CH}_2(2\text{-naftyl}))- \text{NH-CONH}_2$ ($\text{C}_{21}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_2$, MG 362)

10 500 mg (1,08 mmol) ren Boc-Phe-N($\text{CH}_2(2\text{-naftyl})$)-NH-CONH₂ blir oppløst i 10 ml dioksan. Ved 0°C tilsetter man under omrøring 10 ml av en mettet HCl-dioksanoppløsning og rører dette i 1 time ved 0°C. Deretter blir oppløsningen sentrifugert, resten omsatt med eter, filtrert og tørket i høyvakuum.

Utbytte: 360 mg (0,90 mmol) = 90%

15

EKSEMPEL 6

20 a) Z-Tyr(OiPr)-Pro-N(iPr)-NH-CONH₂ ($\text{C}_{29}\text{N}_3\text{O}_6$, MG 553)

Tittelforbindelsen blir fremstilt analogt eksempel 2a.

Reagenser:

- Z-Tyr-Pro-azagly-NH₂: 5 g (10 mmol)
- iPrOH: 5,80 ml (7,5 ekv.)
- 25 - PPh₃: 5,25 g (2 ekv.)
- DEAD: 3,15 ml (2 ekv.)
- to ganger 1,31 g (0,5 ekv.) PPh₃ og 0,80 ml (0,5 ekv.) DEAD

30 Etter 4 timer blir oppløsningen sentrifugert og resten rensset ved kieselgel-kromatografi (løpemiddel: 1) $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{aceton} = 9/1$ og 2)

$\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH} = 9,5/0,5$). Fraksjonene blir sentrifugert, bunnfallet behandlet med PE, avfiltrert og tørket i høyvakuum.

35 Utbytte: 4,46 (8,06 mmol) = 80%

$[\alpha]_D^{23}$: - 23,5° ($c = 1$ i AcOH)

Fortegnelse av anvendte forkortelser:

	Cha	cykloheksylalanin
	Chg	cykloheksylglycin
	DCC	dicykloheksylkarbodiimid
5	DMF	dimetylformamid
	Nal	3-(2-naftyl)alanin
	NAM	N-acetyl-morfolin
	Npg	neopentylglycin
	PE	petroleter
10	Tbg	tert.-butylglycin
	Thia	2-tienylalanin

15

20

25

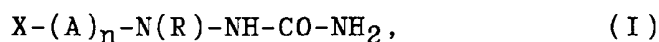
30

35

P a t e n t k r a v

1.

Fremgangsmåte for fremstilling av alkylerte azaglycinderiva-
 5 ter med generell formel



hvor i

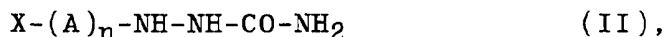
10 X betyr en aminobeskyttelsesgruppe, valgt blant Fmoc,
 Boc eller benzyloksykarbonyl, C₁-C₈-alkanoyl, C₆-
 C₁₄-arylkarbonyl eller C₆-C₁₄-aryl-C₁-C₄-alkanoyl,

A betyr eventuelt i tredjefunksjonen beskyttet
 aminosyre- eller iminosyrerester,

15 n 0-10, der X betyr C₁-C₈-alkanoyl, C₆-C₁₄-arylkarbonyl
 eller C₆-C₁₄-aryl-C₁-C₄-alkanoyl, dersom n = 0, og

R betyr C₁-C₈-alkyl, C₆-C₁₄-aryl-C₁-C₄-alkanyl eller
 pyridyl-C₁-C₄-alkanyl,

k a r a k t e r i s e r t v e d at man omsetter en
 20 generell forbindelse med formel II,



der X, A og n har ovennevnte betydning, med en primær eller
 25 sekundær alkohol og DEAD i overskudd samt et tri-C₁-C₆-
 alkylfosfin, tri-C₆-C₁₄-arylfosfin eller pyridyl-di-C₆-C₁₄-
 arylfosfin, der aryldelen eventuelt kan være substituert med
 di-C₁-C₄-alkylamino, i en eter ved 0°C til 30°C og eventuelt
 avspalter aminobeskyttelsesgruppen X, forutsatt at ved
 30 anvendelsen av tri-n-butylfosfin betyr X ikke Fmoc.

2.

Fremgangsmåte ifølge krav 1, k a r a k t e r i s e r t
 v e d at man anvender trifenylfosfin, tri-n-butyl-fosfin,
 35 p-dimetyl-aminofenyl-difenylfosfin pyridyl-difenylfosfin
 eller polymerbundet trifenylfosfin.