

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2012-502044

(P2012-502044A)

(43) 公表日 平成24年1月26日(2012.1.26)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 1/02 (2006.01)	C07K 1/02 ZNA	4C084
A61K 38/00 (2006.01)	A61K 37/02	4H045
A61P 9/10 (2006.01)	A61P 9/10	
A61P 7/02 (2006.01)	A61P 7/02	
C07K 1/06 (2006.01)	C07K 1/06	

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 13 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願2011-526190 (P2011-526190)	(71) 出願人	503345569 サイノファーム タイワン リミテッド 台湾 741 タイナン カウンティー タイナン サイエンスーベイスド インダ ストリアル パーク ナンケ エイス ロード ナンバー1
(86) (22) 出願日	平成21年9月3日(2009.9.3)	(74) 代理人	100092093 弁理士 辻居 幸一
(85) 翻訳文提出日	平成23年5月2日(2011.5.2)	(74) 代理人	100082005 弁理士 熊倉 禎男
(86) 国際出願番号	PCT/US2009/055853	(74) 代理人	100084663 弁理士 箱田 篤
(87) 国際公開番号	W02010/028122	(74) 代理人	100093300 弁理士 浅井 賢治
(87) 国際公開日	平成22年3月11日(2010.3.11)		
(31) 優先権主張番号	61/190, 928		
(32) 優先日	平成20年9月3日(2008.9.3)		
(33) 優先権主張国	米国 (US)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 ビバリルジンの製造方法

(57) 【要約】

【課題】 ビバリルジンの効率的な商業的合成を提供する。

【解決手段】 a) セグメント AspPheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOBn(S3) とセグメント FmocGlyGlyGlyGlyAsnGlyOH(S2) を第1の有機溶媒中で縮合する工程; b) 工程a)の生成物を脱保護する工程; c) 工程b)の生成物とセグメント Boc-D-PheProArg(HCl)ProOH(S1) を第2の有機溶媒中で縮合する工程; d) 工程c)の生成物のベンジル基を脱保護する工程; e) 工程d)の生成物とセグメント Glu(tBu)Glu(tBu)Tyr(tBu)LeuOtBu(S4) を第3の有機溶媒中で縮合する工程; f) 工程e)の生成物を脱保護して、ビバリルジンを得る工程を含む。

【選択図】 なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

ビバリルジンの調製方法であって、

- a) セグメント AspPheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOBn(S3) とセグメント FmocGlyGlyGlyGlyAsnGlyOH(S2) を第1の有機溶媒中で縮合する工程；
- b) 工程a)の生成物を脱保護する工程；
- c) 工程b)の生成物とセグメント Boc-D-PheProArg(HCl)ProOH(S1) を第2の有機溶媒中で縮合する工程；
- d) 工程c)の生成物のベンジル基を脱保護する工程；
- e) 工程d)の生成物とセグメント Glu(tBu)Glu(tBu)Tyr(tBu)LeuOtBu(S4) を第3の有機溶媒中で縮合する工程；
- f) 工程e)の生成物を脱保護して、ビバリルジンを得る工程を含む、前記方法。

10

【請求項 2】

第1の有機溶媒、第2の有機溶媒および第3の有機溶媒が、独立して、DCM、DMF、およびDMSOより選ばれる、請求項1に記載の方法。

【請求項 3】

工程b)の生成物の脱保護が、求核塩基を用いることにより行われる、請求項1に記載の方法。

【請求項 4】

工程d)の生成物の脱保護が、触媒の存在下に水素添加による、請求項1に記載の方法。

20

【請求項 5】

工程f)の生成物の脱保護が、TFA/TIS/H₂Oの混合物と反応させてビバリルジンを得ることによる、請求項1に記載の方法。

【請求項 6】

セグメント1、Boc-D-PheProArg(HCl)ProOHの化合物。

【請求項 7】

請求項6記載のセグメント1 Boc-D-PheProArg(HCl)ProOH(S1)の調製方法であって、

- a) HCl Arg(HCl)ProOBn(S1M2)とBoc-D-PheProOH(S1M4)を第1の有機溶媒中で縮合する工程；
- b) 工程a)の生成物のベンジル基をアルカリ性条件下で脱保護する工程；
- c) セグメント Boc-D-PheProArg(HCl)ProOH(S1) を第2の有機溶媒中で沈殿させる工程を含む、前記方法。

30

【請求項 8】

HCl Arg(HCl)ProOBn(S1M2)が

- a) HCl ProOBnとBocArgOH HClを第3の有機溶媒中で縮合する工程；
- b) 工程a)の生成物を酸性溶液中で脱保護して、HCl Arg(HCl)ProOBn(S1M2)を得る工程によって調製される、請求項7に記載の方法。

【請求項 9】

Boc-D-PheProOH(S1M4)が

- a) HCl ProOBnとBoc-D-PheOHを第4の有機溶媒中で縮合する工程；
- b) 工程a)の生成物をアルカリ溶液中で脱保護して、Boc-D-PheProOH(S1M4)を得る工程によって調製される、請求項7に記載の方法。

40

【請求項 10】

セグメント2、FmocGlyGlyGlyGlyAsnGlyOHの化合物。

【請求項 11】

請求項10記載のセグメント2 FmocGlyGlyGlyGlyAsnGlyOH(S2)の調製方法であって、

- a) HCl GlyOtBuとFmoc Asn(Trt)を第1の有機溶媒中で縮合する工程；
- b) 工程a)の生成物を塩基の存在下に脱保護する工程；
- c) 工程b)の生成物とFmocGlyGlyOHを第2の有機溶媒中で縮合する工程

50

d) 工程c)の生成物を塩基の存在下に脱保護する工程；
 e) 工程d)の生成物とFmocGluGluOHを第3の有機溶媒中で縮合する工程；
 f) 工程e)の生成物を脱保護して、セグメントFmocGlyGlyGlyGlyAsnGlyOH(S2)を得る工程を含む、前記方法。

【請求項12】

セグメント3、Asp(tBu)PheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOBnの化合物。

【請求項13】

請求項12記載のセグメント3 AspPheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOBn(S3)の調製方法であって、

a) HCl ProOBnとBocIleOHを第1の有機溶媒中で縮合する工程； 10
 b) 工程a)の生成物を酸性条件下で脱保護する工程；
 c) 工程b)の生成物とFmocGlu(tBu)OHを第2の有機溶媒中で縮合して、中間体の溶液を得る工程；
 d) 工程c)の中間体を塩基の存在下に脱保護する工程；
 e) d)の生成物とFmocGlu(tBu)OHを第3の有機溶媒中で縮合する工程；
 f) e)の生成物を塩基の存在下に脱保護する工程；
 g) f)の生成物とFmocPheOHを第4の有機溶媒中で縮合する工程；
 h) 工程g)の生成物を塩基の存在下に脱保護する工程；
 i) h)の生成物とFmocAsp(tBu)OHを第5の有機溶媒中で縮合する工程；
 j) 工程i)の生成物を脱保護して、セグメントAspPheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOBn(S3)を得る工程 20
 を含む、前記方法。

【請求項14】

セグメント4、Glu(tBu)Glu(tBu)Tyr(tBu)LeuOtBuの化合物。

【請求項15】

請求項14記載のセグメント4 Glu(tBu)Glu(tBu)Tyr(tBu)LeuOtBu(S4)の調製方法であって、

a) FmocTyr(tBu)OHとHCl LeuOtBuを第1の有機溶媒中で縮合する工程；
 b) 工程a)の生成物を塩基の存在下に脱保護する工程；
 c) 工程b)の生成物とFmocGlu(tBu)OHを第2の有機溶媒中で縮合する工程； 30
 d) 工程c)の生成物を塩基の存在下に脱保護する工程；
 e) 工程d)の生成物とFmocGlu(tBu)OHを第3の有機溶媒中で縮合する工程；
 f) 工程e)の生成物を脱保護して、セグメントGlu(tBu)Glu(tBu)Tyr(tBu)LeuOtBu(S4)を得る工程
 を含む、前記方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

関連出願

本出願は、2008年9月3日に出願された米国仮特許出願第61/190,928号の優先権を主張する。この明細書の全体の内容は本願明細書に含まれるものとする。 40

発明の分野

本発明は、ビバリルジンペプチドを製造するための効率的な商業的合成に関する。ビバリルジンが急性虚血性合併症のリスクを低下させるのに必要であり、且つ抗凝固薬で直接トロンビン阻害剤として作用することはよく知られている。方法は、実質的に、ポリペプチドの種々の断片を合成し、これらの断片をカップリングして、ビバリルジンを得ることを含む。

【背景技術】

【0002】

トロンビン阻害剤は、当該技術において周知の種々の技術によって合成される。これに 50

は、天然ヒルジンあるいは組換えヒルジンの酵素的切断、組換えDNA技術、固相ペプチド合成、液相ペプチド合成、有機化学合成技術、またはこれらの技術の組み合わせが含まれる。

以下の引例には、トロンピン阻害剤を製造する種々の技術が開示されている。

- (1) US 5196404
- (2) US 5240913
- (3) US 5425936
- (4) US 5433940
- (5) US 5514409
- (6) US 5691311
- (7) US 2007093423
- (8) US 2008051558
- (9) US 2008287648
- (10) US 2008287650
- (11) US 20090062511
- (12) WO9850563

10

【発明の概要】

【発明が解決しようとする課題】

【0003】

上記引例の開示は、本願明細書に全体に含まれるものとする。合成が急速に行われ得るように、引例のあるものはビバリルジンを製造する固相ペプチド合成が開示されている。しかしながら、この合成法は、低収率で高製造コストの結果となる。

20

【課題を解決するための手段】

【0004】

本発明は、収率が高く且つ商業的生産に拡張可能な溶液におけるビバリルピンの効率的な製造方法を提供する。この方法は、アミノ酸セグメントS1、S2、S3、S4の段階的合成、およびこれらのセグメントと一緒にカップリングしてビバリルジンを製造することを含む。本発明の方法は、固相ペプチド合成法と比較して高収率で且つ高純度のビバリルジンを製造することを提供する。

添付の特許請求の範囲は、ビバリルジンを製造し且つ種々の新規な中間体を製造する方法に関する。第1の有機溶媒、第2の有機溶媒等に対するこれらの特許請求の範囲内の説明は、有機溶媒が特許請求した同じ方法の中で異なってもよくまたは同じであってもよいことを示すことを意味する；また、特許請求した一方法から特許請求した他の異なる方法まで有機溶媒について同じ用語のその説明は、溶媒が必ずしも同じであることを必要としない。

30

【図面の簡単な説明】

【0005】

【図1】図1は、実施例1、2および3に開示されるペプチドセグメント1(S1)の合成を示す図である。

【図2】図2は、実施例4および5に開示されるペプチドセグメント2(S2)の合成を示す図である。

40

【図3】図3は、実施例6、7および8に開示されるペプチドセグメント3(S3)の合成を示す図である。

【図4】図4は、実施例9および10に開示されるペプチドセグメント4(S4)の合成を示す図である。

【図5】図5は、実施例11、12および13に開示されるビバリルジンの合成を示す図である。

【発明を実施するための形態】

【0006】

本説明およびスキームに用いられる中間体の確認参照コードは、以下の通り定義される

50

°		
S1M1 (セグメント1のM1)	- BocArg(HCl)ProOBn	
S1M2 (セグメント1のM2)	- HCl Arg(HCl)ProOBn	
S1M3 (セグメント1のM3)	- Boc-D-PheProOBn	
S1M4 (セグメント1のM4)	- Boc-D-PheProOH	
S1M5 (セグメント1のM5)	- Boc-D-PheProArg(HCl)ProOBn	
S1 (セグメント1)	- Boc-D-PheProArg(HCl)ProOH	
S2M1 (セグメント2のM1)	- FmocAsn(Trt)GlyOtBu	
S2M2 (セグメント2のM2)	- Asn(Trt)GlyOtBu	
S2M3 (セグメント2のM3)	- FmocGlyAsn(Trt)GlyOtBu	10
S2M4 (セグメント2のM4)	- GlyGlyAsn(Trt)GlyOtBu	
S2M5 (セグメント2のM5)	-FmocGlyGlyGlyGlyAsn(Trt)GlyOtBu	
S2 (セグメント2)	- FmocGlyGlyGlyGlyAsnGlyOH	
S3M1 (セグメント3のM1)	- BocIleProOBn	
S3M2 (セグメント3のM2)	- HCl IleProOBn	
S3M3 (セグメント3のM3)	- FmocGlu(tBu)IleProOBn	
S3M4 (セグメント3のM4)	- Glu(tBu)IleProOBn	
S3M5 (セグメント3のM5)	- FmocGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOBn	
S3M6 (セグメント3のM6)	- Glu(tBu)Glu(tBu)IleProOBn	
S3M7 (セグメント3のM7)	- FmocPheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOBn	20
S3M8 (セグメント3のM8)	- H-PheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOBn	
S3M9 (セグメント3のM9)	- FmocAsp(tBu)PheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOBn	
S3 (セグメント3)	- Asp(tBu)PheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOBn	
S4M1 (セグメント4のM1)	- FmocTyr(tBu)LeuOtBu	
S4M2 (セグメント4のM2)	- Tyr(tBu)LeuOtBu	
S4M3 (セグメント4のM3)	- FmocGlu(tBu)Tyr(tBu)LeuOtBu	
S4M4 (セグメント4のM4)	- Glu(tBu)Tyr(tBu)LeuOtBu	
S4M5 (セグメント4のM5)	- FmocGlu(tBu)Glu(tBu)Tyr(tBu)LeuOtBu	
S4 (セグメント4)	- Glu(tBu)Glu(tBu)Tyr(tBu)LeuOtBu	
M1	- Fmoc-GlyGlyGlyGlyAsnGlyAsp(tBu)PheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOBn	30
M2	- GlyGlyGlyGlyAsnGlyAsp(tBu)PheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOBn	
M3	- Boc-D-PheProArg(HCl)ProGlyGlyGlyGlyGlyAsnGlyAsp(tBu)- PheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOBn	
M4	- Boc-D-PheProArg(HCl)ProGlyGlyGlyGlyGlyAsnGlyAsp(tBu)- PheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOH	
M5	- Boc-D-PheProArg(HCl)ProGlyGlyGlyGlyGlyAsnGlyAsp(tBu)- PheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProGlu(tBu)Glu(tBu)Tyr(tBu)LeuOtBu	

【 0 0 0 7 】

本説明に用いられる略語は、以下の通り定義される。

Boc	- tert-ブチルオキシカルボニル	40
Bn	- ベンジル	
Fmoc	- 9-フルオレニルメチルオキシカルボニル	
Trt	- トリチル	
tBu	- tert-ブチル	
HOBt	- N-ヒドロキシベンゾトリアゾール	
EDCI	- エチル(3-ジメチルアミノプロピル)カルボジイミド塩酸塩	
EA	- 酢酸エチル	
DIC	- N,N'-ジイソプロピルカルボジイミド	
DCM	- ジクロロメタン	
DMF	- N,N-ジメチルホルムアミド	50

DMSO - ジメチルスルホキシド
 DBU - 1,8-ジアゾビシクロ[5,4,0]ウンデカ-7-エン
 DEA - ジエタノールアミン
 DIEA - N,N-ジイソプロピルエチルアミン
 MTBE - メチルtert-ブチルエーテル
 NMM - N-メチルモルホリン

以下の実施例は、具体的な説明のために示され、開示した発明に対して制限するものではない。

【実施例】

【0008】

10

実施例1

HCl Arg(HCl)ProOBn(S1M2)の調製

保護アミノ酸BocArgOH・HCl・H₂O(1.00Kg)およびProOBn.HCl(0.77kg)をDMF(3L)に溶解し、HOBt(0.45kg)を添加した。DIC(0.57L)およびNMM(0.37L)を添加し、この反応物をもう15時間攪拌した。この反応混合物をろ過し、アセトン(30L)の添加によって中間体を沈殿させた。沈殿した中間体(S1M1)をろ過によって分離し、アセトン(2×6L)で洗浄した。沈殿した中間体(S1M1)をHCl(g)/IPA(13%、5L)に溶解し、この反応液を6時間攪拌した。予め冷却したメチル-t-ブチルエーテル(MTBE、40L)へ添加して生成物を沈殿させた。沈殿した生成物をろ過によって分離し、MTBE(2×20L)で洗浄した。収量：1.06Kg

【0009】

20

実施例2

Boc-D-PheProOH(S1M4)の調製

保護アミノ酸のBoc-D-PheOH(1.00Kg)およびProOBn.HCl(0.93kg)をDCM(8L)に溶解し、HOBt(0.56kg)を添加した。DIEA(0.72L)およびEDCI(0.87kg)を添加し、この反応物を2時間攪拌した。この反応混合物を5%重炭酸ナトリウム溶液(10L)、2.5%クエン酸溶液(5L)および5%重炭酸ナトリウム溶液(5L)で洗浄し、濃縮して、黄色油状物(S1M3)の中間体を得た。中間体(S1M3)を20℃に冷却し、1N NaOH(7.5L水溶液)を添加した。この反応混合物をもう3時間室温にした。この反応混合物を1N HCl(水溶液)で中和し、続いて約3/5の容積に濃縮した。1N HCl(水溶液)でpH約3に調整することによって水層における生成物を沈殿させた。沈殿した生成物をろ過によって分離し、水(2×10L)で洗浄した。収量：1.12Kg

30

【0010】

実施例3

Boc-D-PheProArg(HCl)ProOH(S1)の調製

実施例1(1.00Kg)と実施例2(1.32kg)の化合物をDMF(5L)に溶解し、HOBt(0.41kg)を添加した。NMM(0.41L)およびEDCI(0.63kg)を添加し、この反応物を2時間攪拌した。この反応混合物をDCM(10L)で希釈し、水(10L)で洗浄し、約1/5容積に濃縮した。濃縮した混合物をメチル-t-ブチルエーテル(MTBE、40L)に添加して中間体を沈殿させた。沈殿した中間体をろ過によって分離し、MTBE(2×20L)で洗浄して、中間体(S1M5)を得た。中間体(S1M5)をMeOH(6L)に溶解し、続いてMeOH(6L)と1N NaOH(水5.5L)の混合溶媒に添加した。この反応液を5時間攪拌し、次にHCl(水溶液)で中和し、続いて濃縮した。濃縮した残留物をpH約3に調整した後、DCM(15L)で抽出した。有機層を濃縮し、生成物を沈殿させるためにMTBE(40L)に添加した。沈殿した生成物をろ過によって分離し、MTBE(2×20L)で洗浄した。収量：1.48kg

40

【0011】

実施例4

GlyGlyAsn(Trt)GlyOtBu(S2M4)の調製

保護アミノ酸GlyOtBuo・HCl(0.30kg)およびFmocAsn(Trt)OH(1kg)およびHOBt(0.24kg)をDCM(5L)に攪拌した。この混合物にNMM(0.19L)およびEDCI(0.48kg)を添加した。この反応混合物を3時間反応させて、中間体(S2M1)のDCM溶液を得た。中間体(S2M1)のDCM溶液にDBU(1L)を添加し、3時間反応させた。この反応混合物を水(3×3.5L)で洗浄して、中間体(S2M

50

2、約5L)のDCM溶液を得た。中間体(S2M2)のDCM溶液に保護アミノ酸FmocGlyGlyOH(0.59kg)およびHOBt(0.14kg)を添加し、EDCI(0.48kg)を添加した。この反応混合物を6時間反応させて、中間体(S2M3)の溶液を得た。中間体(S2M3)の溶液にDBU(1L)を添加し、1時間反応させた。反応混合物を水(3×15L)で洗浄した。有機層を濃縮し、MTBE(40L)を添加することによって生成物を沈殿させた。沈殿した生成物をろ過によって分離し、MTBE(2×7L)で洗浄した。収量0.71kg

【0012】

実施例5

FmocGlyGlyGlyGlyAsnGlyOH(S2)の調製

実施例4からの化合物(1.00Kg)および保護アミノ酸FmocGlyGlyOH(0.59kg)をDMF/DCM(3L/10L)の混合溶媒に溶解し、HOBt(0.14kg)を添加した。この混合物にEDCI(0.35kg)を添加し、16時間反応させた。n-ヘプタン/MTBE(30L/30L)の混合溶媒を添加することによって中間体(S2M5)を沈殿させ、ろ過によって分離し、次にMTBE(2×5L)で洗浄した。沈殿した中間体(S2M5)を、水(0.39L)、TIS(0.39L)およびTFA(14.8L)の混合溶媒中で攪拌し、2時間反応させた。MTBE(80L)を添加することによってこの反応混合物を沈殿させ、ろ過によって分離し、MTBE(2×8L)で洗浄した。収量：0.72kg

10

【0013】

実施例6

HCl・IleProOBn(S3M2)の調製

保護アミノ酸ProOBn・HCl(1.00kg)およびBocIleOH 0.5 H₂O(1.04kg)をDCM(6L)に溶解し、HOBt(0.56kg)を添加した。NMM(0.84L)およびEDCI(1.19kg)を添加し、この反応物を4時間攪拌した。この反応混合物を、水(合計9L)およびNaHCO₃(水溶液3L)で洗浄し、続いて濃縮して、中間体(S3M1、発泡体)を得る。中間体(S3M1)をHCl(g)/IPA(約13%、3L)に溶解し、攪拌をもう3時間続けた。溶媒をn-ヘプタンに置き換えMTBE(20L)を添加することによって生成物を沈殿させた。沈殿した生成物をろ過によって分離し、MTBE(合計16L)で洗浄した。収量：1.4kg

20

【0014】

実施例7

FmocGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOBn(S3M7)の調製

実施例6からの化合物(1.00Kg)、保護アミノ酸FmocGlu(tBu)OH(0.87kg)およびHOBt(0.28kg)を、DCM(7L)に溶解した。NMM(0.35L)およびEDCI(0.60kg)を添加し、この反応物を1時間攪拌して、中間体のDCM溶液(S3M3、約7L)を得た。中間体(S3M3)のDCM溶液にDBU(0.47L)を添加し、1時間反応させた。この反応物を水(合計9L)および5% Na₂CO₃(水溶液3L)で洗浄して、中間体のDCM溶液(S3M4、約7L)を得た。中間体(S3M4)のDCM溶液を保護アミノ酸FmocGlu(tBu)OH(0.86kg)およびHOBt(0.28kg)と混合した。EDCI(0.60kg)を添加し、1時間反応させて、中間体のDCM溶液(S3M5、約7L)を得た。DBU(0.47L)を中間体(S3M5)のDCM溶液に添加し、1時間反応させた。この反応混合物を水(合計9L)および5% Na₂CO₃(水溶液3L)で洗浄して、中間体のDCM溶液(S3M6、約7L)を得た。中間体(S3M6)のDCM溶液を保護アミノ酸FmocPheOH(0.78kg)およびHOBt(0.28kg)と混合した。EDCI(0.60kg)を添加し、1時間反応させた。MTBE(20L)を徐々に添加することによって生成物を沈殿させ、ろ過によって分離し、MTBE(3L)で洗浄した。中間体(S3M1)をHCl(g)/IPA(約13%、3L)に溶解し、攪拌をもう3時間続けた。溶媒をn-ヘプタンに置き換えMTBE(20L)を添加することによって生成物を沈殿させた。沈殿した生成物をろ過によって分離し、MTBE(合計16L)で洗浄した。収量：1.84kg

30

40

【0015】

実施例8

AspPheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOBn(S3)の調製

実施例7からの化合物(1.00Kg)をDCM(10L)に溶解した。DBU(0.22L)を添加し、この反応物をもう1時間反応させた。この反応混合物を水(合計9L)および5% Na₂CO₃(水3L)で洗浄して、中間体のDCM溶液(S3M8、約10L)を得た。中間体(S3M8)のDCM溶液を保護アミノ酸FmocAsp(tBu)OH(0.38kg)およびHOBt(0.13kg)と混合した。この混合物にEDCI(0.27kg)を添加し

50

、1時間反応させて、中間体のDCM溶液(S3M9、約10L)を得た。中間体(S3M9)のDCM溶液にDBU(0.22L)を添加しもう1時間反応させた。この反応混合物を水(合計9L)および5% Na₂CO₃(水3L)で洗浄した。n-ヘプタン/MTBE =1/1(35L)の混合溶媒を徐々に添加することによって生成物を沈殿させた。沈殿した生成物をろ過によって分離し、MTBE(6L)で洗浄した。収量：0.90kg

【0016】

実施例9

Glu(tBu)Tyr(tBu)LeuOtBu(S4M4)の調製

保護アミノ酸FmocTyr(tBu)OH(1.00kg)およびLeuOtBu・HCl(0.50kg)をDCM(8L)に溶解し、HOBt(0.33kg)を添加した。DIEA(0.44L)およびEDCI(0.50kg)を添加し、この反応混合物を2時間攪拌した。DEA(2.27l)を添加し、この反応混合物を2時間反応させた。この反応混合物を1N HCl(水溶液)によって中和し、得られた混合物を更に5% Na₂CO₃(水溶液5.3L)で洗浄して、中間体のDCM溶液(S4M2、約8L)を得た。中間体(S4M2)のDCM溶液を保護アミノ酸FmocGlu(tBu)OH(0.93kg)およびHOBt(0.32kg)と混合した。EDCI(0.63kg)を添加し、この反応混合物を2時間反応させた。この反応物にDEA(2.27l)を添加し、もう3時間反応させ、続いて水(2×15L)で洗浄した。有機層をn-ヘプタン(30L)で希釈し、続いて約25Lに濃縮し、他のn-ヘプタン(5L)部を添加することによって生成物を沈殿させた。沈殿した生成物をろ過して分離し、n-ヘプタン(10L)で洗浄した。収量：1.09kg

10

【0017】

実施例10

Glu(tBu)Glu(tBu)Tyr(tBu)LeuOtBu(S4)の調製

実施例9からの化合物(1.00Kg)、保護アミノ酸FmocGlu(tBu)OH(0.72kg)およびHOBt(0.25kg)をDCM(8L)に溶解した。EDCI(0.39kg)は添加し、この反応混合物を2時間反応させた。DEA(1.77L)を添加し、反応混合物を3時間反応させ、続いて水(2×15L)で洗浄した。有機層をn-ヘプタン(30L)で希釈し、続いて約25Lに濃縮し、他のn-ヘプタン(5L)部を添加することによって生成物を沈殿させた。沈殿した生成物をろ過によって分離し、n-ヘプタン(10L)で洗浄した。収量：1.11kg

20

【0018】

実施例11

GlyGlyGlyGlyAsnGlyAsp(tBu)PheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOBn(M2)の調製

実施例8(1.00Kg)および実施例5(0.70kg)からの化合物をDMSO(7L)に溶解し、HOBt(0.16kg)は添加した。EDCI(0.48kg)を添加し、この反応混合物をもう1時間攪拌し、次にピペリジン(1L)を添加し、この反応物をもう2時間攪拌した。水(35L)を添加することによって生成物を沈殿させた。沈殿した生成物をろ過によって分離し、水(2×10L)およびMTBE(3×10L)で洗浄した。収率：1.26kg

30

【0019】

実施例12

Boc-D-PheProArgProGlyGlyGlyGlyAsnGlyAsp(tBu)PheGlu(tBu)Glu(tBu)IleProOH(M4)の調製

実施例11(1.00Kg)および実施例3(0.49kg)からの化合物をDMSO(5.5L)に溶解し、HOBt(0.12kg)を添加した。EDCI(0.16kg)を添加し、この反応混合物をもう1時間攪拌した。水(28L)を添加することによって中間体(M3)を沈殿させ、ろ過によって分離し、水(2×12L)で洗浄した。沈殿した中間体(M3)を66% ACN(水溶液、約20L)中で攪拌した。この混合物にPd/C(10%、0.13Kg)を添加し、続いて水素ガスを導入し、この反応物を16時間激しく攪拌した。この反応混合物をろ過し、水をACNと共沸乾固させることによりろ液中の生成物を沈殿させた。収量：1.04Kg

40

【0020】

実施例13

D-PheProArgProGlyGlyGlyGlyAsnGlyAspPheGluGluIleProGluGluTyrLeuOH・nTFA(粗ピバリン)の調製

50

実施例12(1.00kg)および実施例10(0.42kg)からの化合物をDMSO(5.8L)に溶解し、HOBt(0.08kg)を添加した。EDCI(0.15kg)を添加し、この反応混合物をもう1時間攪拌した。水(24L)を添加することによって中間体(M5)を沈殿させ、ろ過によって分離し、水(2×6L)で洗浄した。沈殿した中間体(M5)を水(0.08L)、TIS(0.33L)およびTFA(7.92L)の混合溶媒に溶解し、この混合物を1時間反応させた。MTBE(29.2L)を徐々に添加することによって生成物を沈殿させ、ろ過によって分離し、MTBE(2×8.3L)およびTHF(2×8.3L)で洗浄した。収量：1.12kg

本発明を本発明のある具体的な実施態様に関して記載してきたが、当業者は手順およびプロトコルの種々の適応、変更、修正、置換、削除、または付加が本発明の精神と範囲から逸脱することなくなされてもよいことを理解するであろう。例えば、上記本明細書に示される具体的な条件以外の反応条件も、上述した本発明の方法から化合物を調製する試薬または方法における変更の結果として適用され得る。それ故、本発明は以下の特許請求の範囲によって限定され且つこの特許請求の範囲は合理的である限り広く解釈されるものとする。

【 図 1 】

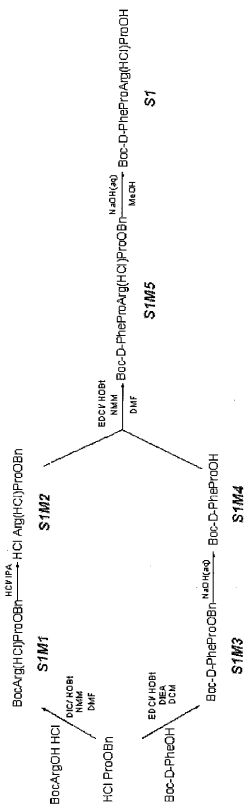


Fig 1

【 図 2 】

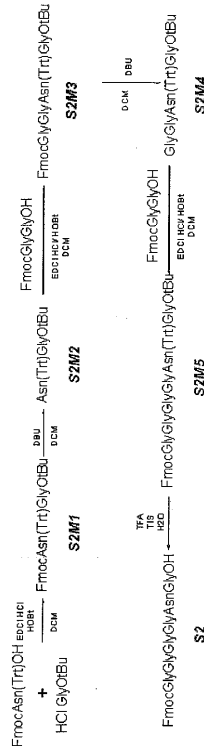


Fig 2

【配列表】

2012502044000001.app

【 国際調査報告 】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT		International application No. PCT/US 09/55853
A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC(8) - A61K 38/00, C07K 1/00 (2009.01) USPC - 530/326, 530/337, 530/339 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) USPC - 530/326, 530/337, 530/339, 530/338 Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used) WEST - PGPB, USPT, USOC, EPAB, JPAB; Dialog Classic Files ? 654, 652, 351, 349, 315, 6, 35, 65, 155; Google Scholar; USPTO Web Page; Search terms - bivalirudin, peptide synthesis, Fmoc, Boc, benzyl, trityl, benzyl, nucleophilic base, TFA, TIS, peptide fragment/segment, organic solvent, DMF, catalytic dehydrogenation, acid deprotection, condensation		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X - Y	US 2007/0093423 A1 (TOVI et al.) 26 April 2007 (26.04.2007) para [0011]-[0015], [0029]-[0031], [0062], [0068], [0070], [0076], [0086], [0087], [0090]	1-3, 5-15 ----- 4
Y	US 2007/0213505 A1 (EPSTEIN et al.) 13 September 2007 (13.09.2007) para [0002], [0012], [0015], [0040], [0042], [0064]	4
<input type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C. <input type="checkbox"/>		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art "&" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 30 November 2009 (30.11.2009)		Date of mailing of the international search report <div style="text-align: center; font-size: 1.2em; font-weight: bold;">09 DEC 2009</div>
Name and mailing address of the ISA/US Mail Stop PCT, Attn: ISA/US, Commissioner for Patents P.O. Box 1450, Alexandria, Virginia 22313-1450 Facsimile No. 571-273-3201		Authorized officer: <div style="text-align: center;">Lee W. Young</div> PCT Helpdesk: 571-272-4300 PCT DSP: 571-272-7774

フロントページの続き

(51) Int. Cl. F I テーマコード (参考)
C 0 7 K 9/00 (2006.01) C 0 7 K 9/00

(81) 指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

(74) 代理人 100119013

弁理士 山崎 一夫

(74) 代理人 100123777

弁理士 市川 さつき

(74) 代理人 100123766

弁理士 松田 七重

(72) 発明者 シアオ ツン ユ

台湾 カオシュン カウンティ ネイ - モン シャン チュン - チェウン ロード レーン 16
0 ナンバー 36

(72) 発明者 ディン ジン グオ

中華人民共和国 シャンハイ ミンハン ドン チュアン ロード 811 ビルディング 86
ルーム 102

(72) 発明者 チュアン フン ウェイ

台湾 タイナン カウンティ シャン - ファ ナン - ケ エイス ロード ナンバー 1

F ターム (参考) 4C084 AA01 AA02 AA06 BA09 BA18 CA59 ZA36 ZA54

4H045 AA10 AA20 AA30 BA13 BA14 BA16 BA17 EA20 FA32 GA05

GA10