

(12)

# PATENTCHRIFT

(21) Anmeldenummer: 886/95

(51) Int.Cl.<sup>6</sup> : **C07D 333/24**  
A23L 1/236

(22) Anmeldetag: 26. 5.1995

(42) Beginn der Patentdauer: 15. 2.1997

(45) Ausgabetag: 25. 9.1997

(56) Entgegenhaltungen:

EP 387677A2 EP 420539A2

(73) Patentinhaber:

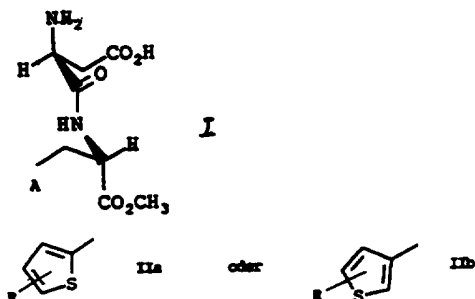
DSM CHEMIE LINZ GMBH  
A-4021 LINZ, OBERÖSTERREICH (AT).

(72) Erfinder:

NDE CHRISTIAN DR.  
FRANKFURT (DE).  
WEIGAND ANTJE DIPL.CHEM.  
FRANKFURT (DE).

(54) L-ASPARTYL-L-THIENYLALANINMETHYLESTER, VERFAHREN ZU DEREN HERSTELLUNG UND VERWENDUNG ALS SÜSSSTOFF

(57) L-Aspartyl-L-thienylalaninmethylester  
in der A einen Rest  
bedeutet, worin R H oder CH<sub>3</sub> sein kann, ein Verfahren zu  
deren Herstellung, sowie deren Verwendung als Süßstoff.



Künstliche Süßstoffe finden in einer Vielzahl von Nahrungsmitteln Anwendung, wobei Saccharin, Cyclamat, Acesulfam-K und Aspartam zu den bekanntesten verwendeten künstlichen Süßungsmitteln zählen. Der Einsatz von Saccharin und Cyclamat gab jedoch immer wieder Anlaß zu Diskussionen über ihre gesundheitliche Unbedenklichkeit und führte so zur Entwicklung neuer Süßstoffe mit hoher Süßkraft. So finden in jüngster Zeit die Süßstoffe Aspartam und Acesulfam-K zunehmende Verbreitung als Lebensmittel-

5 zuzusatzstoff, in deren Folge zahlreiche Untersuchungen über ihre Eigenschaften und Einsatzmöglichkeiten durchgeführt wurden. Da Acesulfam-K in seinen geschmacklichen Qualitäten an Aspartam nicht heranreicht, ist Aspartam das bekanntere und häufiger eingesetzte künstliche Süßungsmittel. Da jedoch manche Personen die Einnahme von Aspartam nicht vertragen, etwa bei Stoffwechselerkrankungen die im Zusammen-

10 hang mit Phenylalanin stehen, liegt die eigentliche Problemlösung auf dem Gebiet der künstlichen Süßstoffe noch immer auf der Entwicklung neuer Produkte, die gut verträglich sind und eine hohe Süßkraft aufweisen. Aufgabe der vorliegenden Erfindung war es demnach, Verbindungen zu finden, die die Nachteile der bisher bekannten Süßstoffe nicht aufweisen und die eine gegenüber dem Stand der Technik gleich große oder erhöhte Süßkraft aufweisen. Aus dem Stand der Technik, etwa aus J. Med. Chem. 1990, 33,

15 Seiten 1676 - 1682, sind beispielsweise Verbindungen bekannt, bei welchen die Phenylalanin-Gruppe von Aspartam ersetzt wurde. Es wurden dabei 8 L-Aspartyl-dipeptide, die von heterocyclischen Glycinestern abgeleitet wurden hergestellt und untersucht. Dabei wurde jedoch festgestellt, daß die  $\beta$ -Thienylalanin-fen-

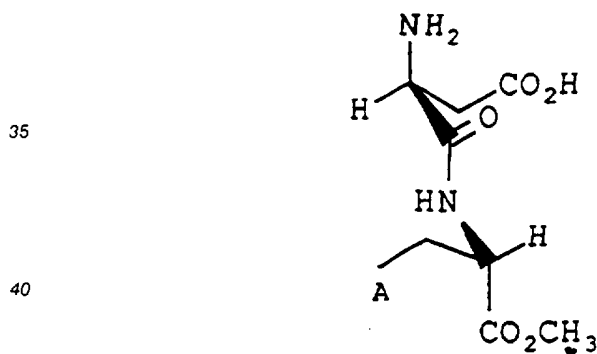
chylesterverbindungen (Verbindung 14) keine Süßkraft besitzen.

In EP-0 387 677 sind Thienyllessigsäurederivate wie etwa Thien-2-yl-N-aminocarbonylmethyl-aminoessigsäure oder Thien-2-yl-N-hydroxycarbonylmethyl-aminoessigsäureamid beschrieben, die sich jedoch nicht von Aspartam ableiten. Diese Verbindungen eignen sich zur Behandlung von Krankheiten der Gehirnfunktionen, eine eventuelle Süßkraft wird in EP-0 387 677 jedoch weder beschrieben noch angedeutet.

EP 0 420 539 beschreibt eine von Aspartam abgeleitete Verbindung, L-Aspartyl-D-alanin-N-(2,2,4,4-tetramethyl-3-thiethanyl)amide (Alitame), die in Kombination mit Stärkederivaten als synergistische Zusammensetzung für Süßstoffe Verwendung findet.

Unerwarteterweise wurden nun andere Verbindungen gefunden, bei welchen die Phenylalanin-Gruppe des Aspartams durch eine Thienylalanin-Gruppe ersetzt ist und die eine gegenüber Aspartam erhöhte oder zumindest gleich große Süßkraft aufweisen

Gegenstand der vorliegenden Erfindung sind demnach L-Aspartyl-L-thienylalaninmethylester der Formel



45 in der A einen Rest der Formel



55 bedeutet, worin R H oder CH<sub>3</sub> sein kann.

A bedeutet somit in der Formel I einen Rest der Formel IIa oder IIb der gegebenenfalls durch einen Methylrest substituiert sein kann.

Beispiele dafür sind 2'-Thienyl, 3'-Thienyl, 2'-(5'-Methyl)thienyl, 2'-(4'-Methyl)thienyl oder 3'-(5'-Methyl)thienyl. Bevorzugt bedeutet X einen 2'-Thienyl-, 3'-Thienyl- oder 2'-(5'-Methyl)thienylrest.

Die Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen kann auf chemischem oder enzymatischem Weg erfolgen. Bevorzugt werden konventionelle chemische Verfahren angewandt. So wird beispielsweise L-Asparaginsäure, deren  $\alpha$ -Aminogruppe und  $\beta$ -Carboxylgruppe geschützt sind, durch Aktivierung der  $\alpha$ -Carboxylgruppe in ein reaktives Derivat überführt, das mit dem Hydrochlorid der entsprechenden Thienylalaninverbindung kondensiert wird, worauf im Anschluß an die Kondensation die Abspaltung der Schutzgruppen erfolgt.

Bevorzugte Schutzgruppen sind dabei beispielsweise für die Amino-Funktion die Benzyloxycarbonylgruppe (Z) oder die tert.-Butyloxycarbonylgruppe (Boc), sowie für die  $\beta$ -Carboxylgruppe der tert.-Butylrest (t-Bu). Die Abspaltung der beiden Schutzgruppen kann dann in einem Schritt acidolytisch (HBr/CH<sub>3</sub>COOH oder HF) erfolgen.

Anstelle der oben angeführten Schutzgruppen bzw. Abspaltungsmethoden können jedoch auch andere aus dem Stand der Technik der Peptidsynthesen bekannte Schutzgruppen oder Abspaltungsmethoden eingesetzt werden.

Die Aktivierung der  $\alpha$ -Carboxylgruppe kann ebenfalls nach einer aus dem Stand der Technik bekannten Methoden, beispielsweise nach der Azid-, der gemischten Anhydrid-, der Aktivester- oder der Carbodiimidmethode erfolgen.

Zur Herstellung der erfindungsgemäßen Verbindungen wird somit zuerst die  $\alpha$ -Carboxylgruppe der L-Asparaginsäure, deren  $\alpha$ -Aminogruppe und  $\beta$ -Carboxylgruppe geschützt sind, beispielsweise die  $\alpha$ -Carboxylgruppe von (S)-N-Benzyloxycarbonylasparaginsäure- $\beta$ -tert.butylester, aktiviert, etwa durch Reaktion mit Trichlorphenol in Gegenwart von Dicyclohexylcarbodiimid (DCC). Dazu wird eine Lösung der Asparaginsäure und Trichlorphenol, das bevorzugt in leichtem Überschuß eingesetzt wird, bei + 10 bis -10 °C mit DCC versetzt und 2 bis 10 Stunden gerührt. Als Lösungsmittel eignet sich dabei beispielsweise Ethylacetat.

Anschließend wird auf etwa 15 bis 30 °C erwärmt, noch 5 bis 30 Minuten gerührt, der ausgefallene Harnstoff abfiltriert, mehrmals mit Ethylacetat gewaschen und das Filtrat im Vakuum vom Lösungsmittel befreit. Das zurückbleibende Öl wird sodann über Kieselgel mit einem Petrolether/Ether-Gemisch geflasht.

Das Edukt für diesen Reaktionsschritt, (S)-N-Benzyloxycarbonylasparaginsäure- $\beta$ -tert.butylester kann beispielsweise analog E.Wünsch, A.Zwick, Z.physiol. Chem. 328 (1962) 235 hergestellt werden.

Anschließend erfolgt die Kupplung mit dem Hydrochlorid der entsprechenden Thienylalaninverbindung in Gegenwart eines Säurefängers, wie etwa Triethylamin, Pyridin u.a.

Bevorzugt wird dabei das im vorangegangenen Schritt erhaltene Produkt in einem geeigneten, wasserfreien Lösungsmittel, wie etwa DMF, gelöst und bei + 5 bis -10 °C in Gegenwart des Säurefängers mit der Hydrochloridverbindung noch mehrere Tage, bevorzugt 2 bis 5 Tage, gerührt.

Die Isolierung des Kupplungsproduktes erfolgt bevorzugt durch Extraktion beispielsweise mit Ether und Eiswasser, Trocknung der organischen Phase, etwa mit Natriumsulfat, Magnesiumsulfat und Abdestillieren des Lösungsmittels. Anschließend erfolgt wiederum das Flashen über Kieselgel.

Das Hydrochlorid des (S)-3-(2'-Thienyl)alaninmethylester ist beispielsweise aus J. Dunn, J. biol. Chem. 234 (1959), S. 802 bekannt, (S)-3-(3'-Thienyl)alanin ist beispielsweise in K. Dittmer et al., J. Am. Chem. soc. 71 (1949), S. 1201 beschrieben.

Im Anschluß an die Kupplung erfolgt die Schutzgruppenabspaltung etwa durch Zusatz von HBr und Eisessig, worauf das gewünschte Endprodukt in Salzform isoliert werden kann.

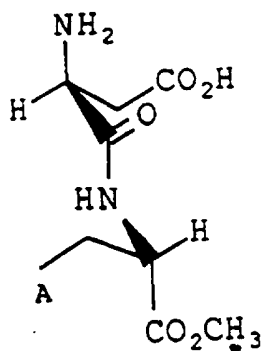
Die Abspaltung erfolgt dabei bei einer Temperatur von 15 bis 30 °C, bevorzugt bei Raumtemperatur, unter tropfenweiser Zugabe einer Lösung von HBr in Eisessig zu einer Eisessig-Lösung des im vorangegangenen Schrittes erhaltenen Produktes und unter 1 bis 4-stündigem Rühren.

Anschließend werden die Lösungsmittel abdestilliert, der Rückstand in Ether oder Dioxan aufgenommen und das ausfallende Produkt abfiltriert und im Vakuum getrocknet. Um das gewünschte Endprodukt aus dem so erhaltenen Hydrobromid zu isolieren, wird die Hydrobromidverbindung in Wasser gelöst und mit einer Base, beispielsweise mit einem basischen Ionentauscher, wie etwa mit Amberlite, versetzt und 10 bis 60 Minuten bei 30 bis 60 °C gerührt. Der Feststoff wird dann abfiltriert, mit Wasser gewaschen und das Eluat, sowie die Waschlösung im Vakuum so stark eingeeengt, daß das entsprechende Endprodukt ausfällt, das sodann abfiltriert und getrocknet wird.

Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist demnach ein Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel

5

10

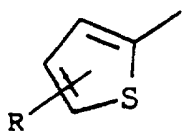


I

15

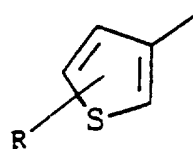
in der A einen Rest der Formel

20



IIa

oder



IIb

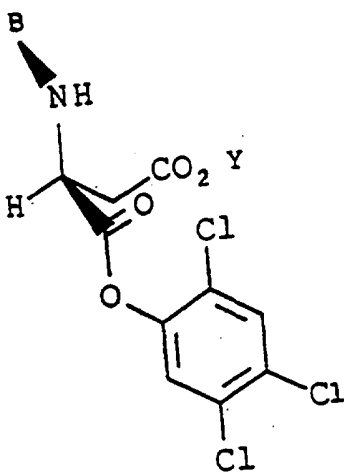
25

bedeutet, worin R H oder CH<sub>3</sub> sein kann, das dadurch gekennzeichnet ist, daß eine Verbindung der Formel

30

35

40

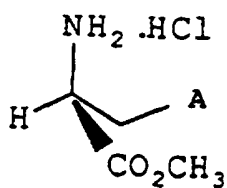


III

45

in der B eine Aminoschutzgruppe und Y eine Carboxyschutzgruppe bedeutet, in Gegenwart eines Säurefängers mit einer Verbindung der Formel

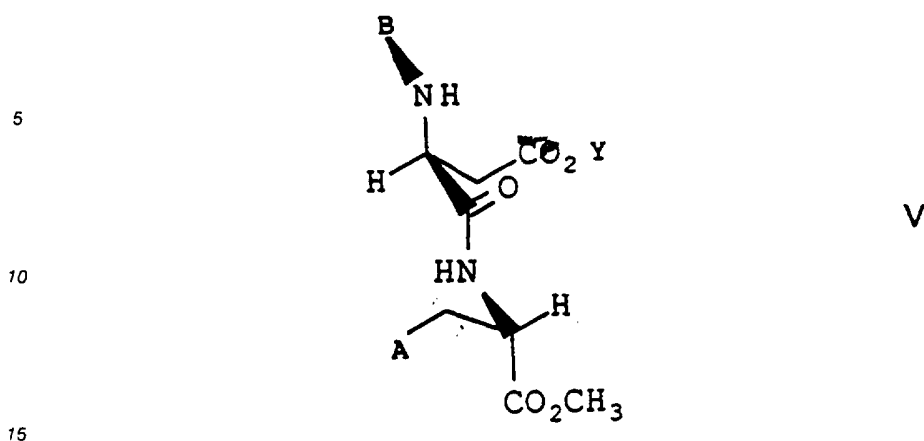
50



IV

55

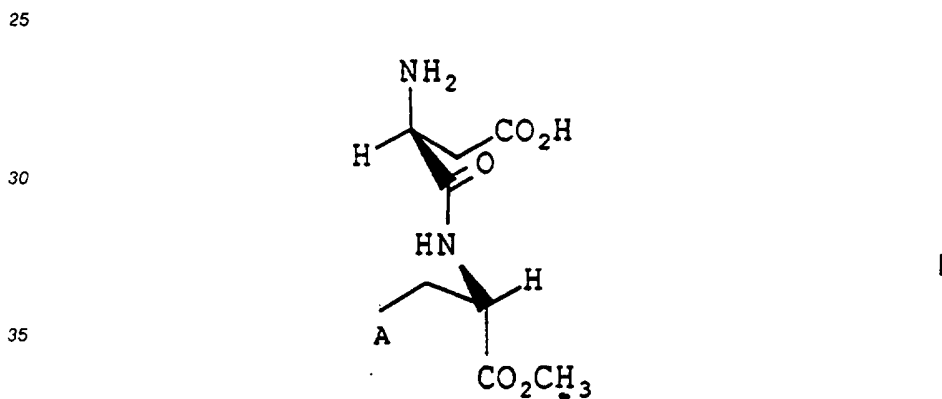
in der A obige Bedeutung hat, zu einer Verbindung der Formel



umgesetzt wird, in der B und Y obige Bedeutung haben, worauf nach Abspaltung ender Schutzgruppen auf acidolytischem Weg, die Isolierung der entsprechenden Verbindung der Formel I aus dem so gewonnenen Salz mittels einer Base erfolgt.

20 Die erfindungsgemäßen Verbindungen der Formel I zeichnen sich durch eine gegenüber dem Stand der Technik verbesserte oder gleichgroße Süßkraft selbst bei Zugabe geringer Mengen aus und eignen sich deshalb zur Verwendung als künstlicher Süßstoff.

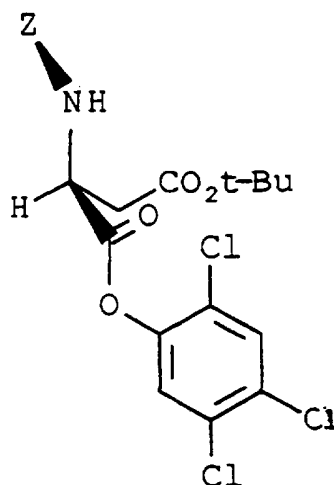
Ein weiterer Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist demnach die Verwendung von Verbindungen der Formel



40 in der A einen Rest der Formel



bedeutet, worin R H oder CH<sub>3</sub> sein kann, als künstlicher Süßstoff.

Beispiel 1: Herstellung von N-L- $\alpha$ -Aspartyl-L-(2-thienyl)alanin, Methylester (1)1.1. (S)-N-Benzoyloxycarbonyl-asparaginsäure- $\beta$ -tert.-butyl- $\alpha$ -2,4,5-trichlorphenylester (4)

Eine Lösung von 7.5 g (23.2 mmol) (S)-N-Benzoyloxycarbonyl-asparaginsäure- $\beta$ -tert.butylester und 5.05 g (25.6 mmol) Trichlorphenol in 60 ml Ethylacetat wurde bei 0 °C mit 4.74 g (23.3 mmol) DCC versetzt und im Eisbad 4 h lang gerührt.

Nach weiteren 15 min Rühren bei Raumtemperatur wurde der ausgefallene Harnstoff abfiltriert, mehrmals mit Ethylacetat gewaschen und das Filtrat im Vakuum von Lösungsmittel befreit.

Das zurückbleibende Öl wurde über 260 g Kieselgel mit Petrolether (40 - 60 °C) /Ether (Gradient von 9:1 bis 7:3) geflasht.

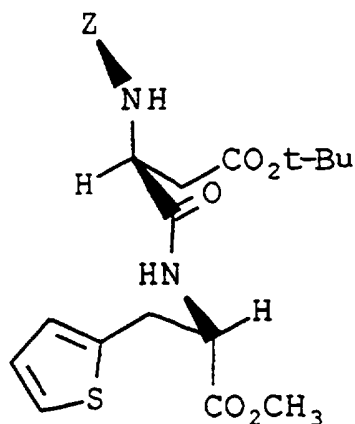
Ausbeute : 8.3 g, (71 %), farbloses Öl  
 $R_f$  = 0.28 (Petrolether:Ether = 9:1)

$$[\alpha]_D^{25}$$

$$= -6^\circ, (c = 1.0, \text{CH}_2\text{Cl}_2)$$

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.56 (s; 1H, CH), 7.42 - 7.32 (m; 6H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ , CH), 5.91 (d; 1H, NH), 5.18 (s; 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.92 (m; 1H, CH), 3.14 (dd; 1H, CH von  $-\text{CH}_2-$ ), 2.92 (dd; 1H, CH von  $-\text{CH}_2-$ ), 1.48 (s; 9H,  $\text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 169.87 (s; COO), 168.39 (s; COO), 155.97 (s; CONH), 145.44 (s; C), 135.99 (s; C), 131.55 (s; C), 130.87 (d; CH), 128.56 (d; CH), 128.29 (d; CH), 128.13 (d; CH), 125.86 (s; C), 125.11 (d; CH), 82.40 (s; OC), 67.36 (t;  $\text{OCH}_2$ ), 50.58 (d; CH), 37.68 (t;  $-\text{CH}_2-$ ), 28.03 (q;  $\text{CH}_3$ ).

1.2. L- $\beta$ -tert. Butyl-N-carbobenzoxy- $\alpha$ -aspartyl-L-(2-thienyl)alanin; Methylester (5)

8.0 g (15.91 mmol) 4 werden in 50 ml wasserfreiem DMF gelöst und bei 0 °C mit 3.53 g (15.91 mmol) (S)-3-(2'-Thienyl)-alanin, Methylester, Hydrochlorid und 2.20 ml (15.91 mmol) Triethylamin versetzt und 3 Tage bei 0 - 4 °C gerührt. Die Reaktionslösung wurde anschließend Eiswasser und Ether verteilt, die wässrige Phase mehrmals mit Ether extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Das so erhaltene Rohprodukt wurde über 220 g Kieselgel mit Petrolether:Ether (Gradient von 6:4 aus 1:2) geflasht.

Ausbeute : 5.7 g (73 %), farbloser Feststoff, Smp: 56 - 57 °C

$R_f$  = 0.36 (Petrolether:Ether = 1:2),

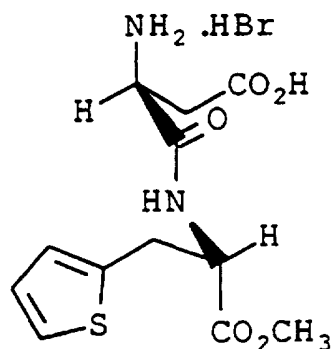
$$[\alpha]_D^{25}$$

$$= + 41.5^\circ, (c = 0.89, \text{CH}_2\text{Cl}_2)$$

**$^1\text{H-NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 7.30 - 7.25 (m; 5H,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 7.07 (dd; 1H, Th-H-3), 7.02 (bs; 1H, CONH), 6.85 (dd; 1H, Th-H-4), 6.78 (dd; 1H, Th-H-5), 5.90 (d; 1H, CONH), 5.06 (s; 2H,  $\text{OCH}_2$ ), 4.77 (m; 1H, CH), 4.50 (m; 1H, CH), 3.67 (s; 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.28 (m; 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2.85 (dd; 1H, CH von  $-\text{CH}_2-$ ), 2.55 (dd; 1H, CH von  $-\text{CH}_2-$ ), 1.36 (s; 9H,  $\text{CH}_3$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  = 170.99 (s; CO), 170.81 (s; CO), 170.31 (s; CO), 156.51 (s; CONH), 137.02 (s; C), 136.08 (s; C), 128.06 (d; CH), 128.23 (d; CH), 128.06 (d; CH), 127.07 (d; CH), 126.99 (d; CH), 124.86 (d; CH), 81.82 (s; OC), 67.21 (t;  $\text{OCH}_2$ ), 53.35 (q;  $\text{OCH}_3$ ), 52.45 (d; CH), 51.09 (d; CH), 37.28 (t;  $-\text{CH}_2-$ ), 31.85 (t;  $-\text{CH}_2-$ ), 27.99 (q;  $\text{CH}_3$ ).

$\text{C}_{24}\text{H}_{30}\text{N}_2\text{O}_7\text{S}$ (490.58):	Ber.:	C 58.76	H 6.16	N 5.71
	Gef.:	C 58.55	H 6.12	N 5.66

1.3. N-L- $\alpha$ -Aspartyl-L-(2-thienyl)alanin, Methylester, Hydrobromid (6)

Eine Lösung von 5.0 g (10.2 mmol) **5** in 20 ml Eisessig wurde bei Raumtemperatur tropfenweise mit 15 ml (61.2 mmol) einer 4.1 M (33 %) Lösung von HBr in Eisessig versetzt und 2 h gerührt.

Die Lösungsmittel wurden im Wasserstrahlvakuum abdestilliert und der ölige Rückstand mit 100 ml Ether digeriert. Dabei fiel ein farbloses Kristallpulver aus, welches abfiltriert und im Vakuum getrocknet wurde.

Ausbeute : 3.6 g (93 %), farblose Nadeln, Smp: 45 - 46 ° C  
 $R_f = 0.30$  (EtOAc:MeOH = 1:1),

$$[\alpha]_D^{25}$$

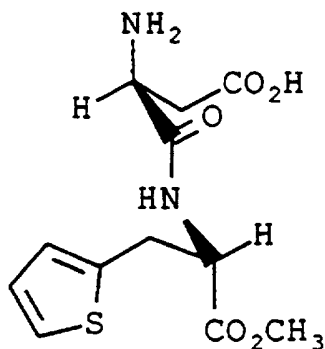
$$= -1.97^\circ \text{ (c = 1.17, H}_2\text{O)}$$

**<sup>1</sup>H-NMR** (D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 7.30 (dd; 1H, Th-H-3), 6.98 (dd; 1H, Th-H-4), 6.70 (dd; 1H, Th-H-5), 4.72 (m; 1H, CH), 4.30 (m; 1H, CH), 3.72 (s; 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.43 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 3.33 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 2.97 (m; 2H, -CH<sub>2</sub>-), 1.36 (s; 9H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (D<sub>2</sub>O:d<sub>6</sub>-DMSO = 7:1):  $\delta$  = 173.73 (s; COO), 169.68 (s; COO), 139.39 (s; C), 128.90 (d; CH), 128.63 (d; CH), 126.87 (d; CH), 55.91 (d; CH), 54.53 (q; OCH<sub>3</sub>), 50.67 (d; CH), 36.27 (t; -CH<sub>2</sub>-), 31.95 (t; -CH<sub>2</sub>-)

C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> BrN <sub>2</sub> O <sub>5</sub> (381.25):	Ber.:	C 37.81	H 4.49	N 7.35
	Gef.:	C 38.09	H 4.81	N 7.19



1.4. Herstellung von N-L- $\alpha$ -Aspartyl-L-(2-thienyl)alanin, Methylester (1)

20 ml stark basischer Ionenaustauscher (Amberlite IRA-400) wurden über Nacht in gesättigter wässriger Natriumacetatlösung gerührt. Anschließend wurde der Ionenaustauscher abfiltriert und mit Wasser neutral gewaschen.

Der so aktivierte Amberlite wurde mit einer Lösung von 3.1 g (8.10 mmol) 6 in 50 ml Wasser 30 min bei 45 °C gerührt. Der Feststoff wurde abfiltriert, mit 30 ml Wasser gewaschen und das Eluat, sowie die Waschlösungen im Vakuum stark eingengt. Beim Abkühlen fielen farblose Nadeln aus, welche abfiltriert und getrocknet wurden.

Ausbeute : 1.8 g (74 %), farbloses Nadeln, Smp: 223 - 225 °C  
 $R_f = 0.405$  (EtOAc:MeOH = 1:1),

$$[\alpha]_D^{23}$$

$$= + 43^\circ, (c = 0.71, \text{HOAc})$$

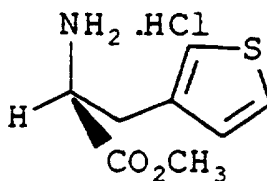
**<sup>1</sup>H-NMR** (D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 7.28 (dd; 1H, Th-H-3), 6.96 (dd; 1H, Th-H-4), 6.88 (dd; 1H, Th-H-5), 4.69 (m; 1H, CH), 4.15 (m; 1H, CH), 3.69 (s; 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.40 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 3.28 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 2.71 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 2.60 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-).

**<sup>13</sup>C-NMR** (d<sub>6</sub>-DMSO):  $\delta$  = 172.29 (s; CO), 170.97 (s; CO), 170.70 (s; CO), 138.44 (s; C), 127.00 (d; CH), 126.70 (d; CH), 124.92 (d; CH), 53.70 (q; OCH<sub>3</sub>), 52.15 (d; CH), 50.48 (d; CH), 37.41 (t; -CH<sub>2</sub>-), 30.82 (t; -CH<sub>2</sub>-).

C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S (300.33):	Ber.:	C 47.99	H 5.37	N 9.21
	Gef.:	C 47.70	H 5.60	N 9.33

Beispiel 2: Herstellung von N-L- $\alpha$ -Aspartyl-L-(3-thienyl)alanin, Methylester (2)

## 2.1. (S)-3-(3'-Thienyl)-alanin, Methylester, Hydrochlorid (7)



Durch eine Suspension von 4.00 g (23.4 mmol) (S)-3-(3'-Thienyl)-alanin in 150 ml wasserfreiem Methanol wurde bei Raumtemperatur 3h ein starker Strom trockener Chlorwasserstoff geleitet.

Das Lösungsmittel wurde anschließend bis zur Trockne abgedampft, der Rückstand mit 20 ml Methanol aufgenommen und mit Ether bis zur vollständigen Fällung versetzt. Das ausgefallene Produkt wurde abfiltriert und getrocknet.

Ausbeute : 4.6 g (89 %), bräunlicher Feststoff, Smp: 174 - 176 °C

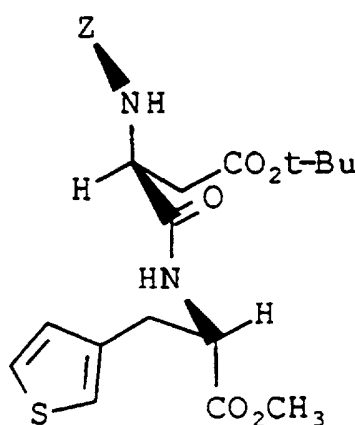
$$[\alpha]_D^{23}$$

$$= + 5.3^\circ \text{ (c = 0.76, MeOH)}$$

**<sup>1</sup>H-NMR** (D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 7.41 (dd; 1H, Th-H-4), 7.22 (d; 1H, Th-H-2), 6.93 (d; 1H, Th-H-5), 4.35 (t; 1H,  $\alpha$ -CH), 3.77 (s; 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.25 (d; 2H, -CH<sub>2</sub>-).

**<sup>13</sup>C-NMR** (D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 172.6 (s; COO), 136.1 (s; C), 130.6, 130.1, 127.4 (d; C), 56.2 (d;  $\alpha$ -CH), 56.1 (q; OCH<sub>3</sub>), 32.5 (t; -CH<sub>2</sub>-).

## 2.2. L- $\beta$ -tert-Butyl-N-carbobenzoxy- $\alpha$ -aspartyl-L-(3-thienyl)alanin, Methylester (8)



6.8 g (13.5 mmol) 4 wurden in 50 ml wasserfreiem DMF gelöst, bei 0 °C mit 3.00 g (13.5 mmol) 7 und 1.87 ml (13.5 mmol) Triethylamin versetzt und 3 d bei 0 - 4 °C gerührt.

Die Reaktionslösung wurde sodann zwischen 160 ml Eiswasser und 100 ml Ether verteilt, die wässrige Phase mehrmals mit Ether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die Etherlösung wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Das so erhaltene Rohprodukt wurde über 220 g Kieselgel mit Petrolether:Ether (Gradient von 6:4 aus 1:2) geflasht.

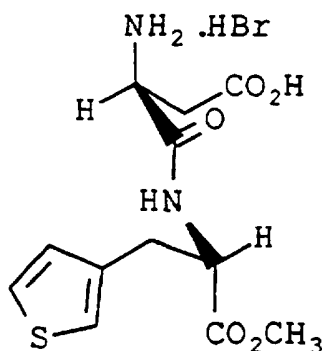
Ausbeute : 5.2 g (79 %), farbloser Feststoff, Smp: 74 - 76 °C  
R<sub>f</sub> = 0.364 (Petrolether:Ether = 1:2),

$$[\alpha]_D^{25}$$

$$= + 31.2^\circ \text{ (c = 1.1, CH}_2\text{Cl}_2\text{)}$$

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 7.30 - 7.25 (m; 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.18 (m; 1H, Th-H), 6.98 (m; 1H, Th-H), 6.82 (m; 1H, Th-H), 5.90 (d; 1H, CONH), 5.06 (s; 2H, OCH<sub>2</sub>), 4.73 (m; 1H,  $\alpha$ -CH), 4.50 (m; 1H,  $\alpha$ -CH), 3.66 (s; 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.08 (m; 2H, -CH<sub>2</sub>-), 2.85 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 2.50 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 1.36 (s; 9H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 171.26 (s; CO), 171.07 (s; CO), 170.19 (s; CO), 155.89 (s; CONH), 136.01 (s; CH), 135.69 (s; C-3-Th), 128.49 (d; CH), 128.22 (d; CH), 128.17 (d; CH), 127.07 (d; CH), 125.86 (d; CH), 122.89 (d; CH), 81.76 (s; OC<sub>quart</sub>), 67.15 (t; OCH<sub>2</sub>), 52.88 (q; OCH<sub>3</sub>), 52.25 (d;  $\alpha$ -CH), 50.97 (d;  $\alpha$ -CH), 37.15 (t; -CH<sub>2</sub>), 32.12 (t; -CH<sub>2</sub>-), 27.93 (q; CH<sub>3</sub>).

2.3. N-L- $\alpha$ -Aspartyl-L-(3-thienyl)alanin, Methylester, Hydrobromid (9)

Eine Lösung von 5.0 g (10.2 mmol) **8** in 50 ml Eisessig wurde bei Raumtemperatur tropfenweise mit 15 ml (61.2 mmol) einer 4.1 M (33 %) Lösung von HBr in Eisessig versetzt und 2 h gerührt.

Die Lösungsmittel wurden anschließend im Wasserstrahlvakuum abdestilliert und der ölige Rückstand mit 100 ml Ether digeriert. Dabei fiel ein farbloses Kristallpulver aus, welches abfiltriert und im Vakuum getrocknet wurde.

Ausbeute : 3.7 g (95 %), farblose Nadeln, Smp: 82 - 84 °C

$R_f$  = 0.371 (EtOAc:MeOH = 1:1),

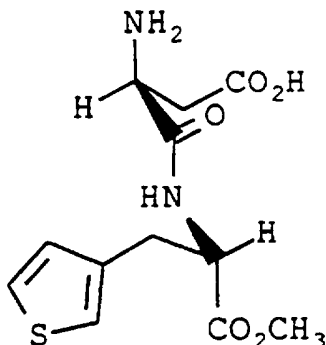
$$[\alpha]_D^{25}$$

$$= + 27^\circ \text{ (c = 1.0, HOAc)}$$

**$^1\text{H-NMR}$**  ( $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 7.39 (m; 1H, Th-H), 7.18 (m; 1H, Th-H), 6.98 (m; 1H, Th-H), 4.74 (m; 1H,  $\alpha$ -CH), 4.28 (m; 1H,  $\alpha$ -CH), 3.70 (s; 3H,  $\text{OCH}_3$ ), 3.22 (dd; 1H, CH von  $-\text{CH}_2-$ ), 3.15 (dd; 1H, CH von  $-\text{CH}_2-$ ), 2.95 (m; 2H,  $-\text{CH}_2-$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$**  ( $\text{D}_2\text{O}$ ):  $\delta$  = 172.13 (s; COO), 171.84 (s; COO), 167.63 (s; CONH), 137.30 (s; C-3-Th), 127.55 (d; CH), 125.87 (d; CH), 122.56 (d; CH), 54.43 (d;  $\alpha$ -CH), 53.54 (q;  $\text{OCH}_3$ ), 49.79 (d;  $\alpha$ -CH), 35.31 (t;  $-\text{CH}_2-$ ), 31.21 (t;  $-\text{CH}_2-$ ).

$\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{BrN}_2\text{O}_5\text{S} \cdot 0.40 \text{ H}_2\text{O}$ (388.46):	Ber.:	C 37.10	H 4.62	N 7.21
	Gef.:	C 37.15	H 4.70	N 7.08

2.4. N-L- $\alpha$ -Aspartyl-L-(3-thienyl)alanin, Methylester (2)

20 ml stark basischer Ionenaustauscher (Amberlite IRA-400) wurden über Nacht in gesättigter wässriger Natriumacetatlösung gerührt. Anschließend wurde der Ionenaustauscher abfiltriert und mit Wasser neutral gewaschen.

Der so aktivierte Amberlite wurde mit einer Lösung von 3.5 g (9.20 mmol) **9** in 50 ml Wasser 30 min bei 45 °C gerührt. Der Feststoff wurde abfiltriert, mit 30 ml Wasser gewaschen, nochmals bei 45 °C mit 50 ml Wasser digeriert und das Eluat, sowie die Waschlösungen im Vakuum stark eingeeengt. Beim Abkühlen fielen farblose Nadeln aus, welche abfiltriert und getrocknet wurden.

Ausbeute : 2.3 g (83 %), farbloses Nadeln, 234 - 235 °C  
 $R_f = 0.408$  (EtOAc:MeOH = 1:1),

$$[\alpha]_D^{23}$$

$$= +30^\circ, (c = 1.0, \text{HOAc})$$

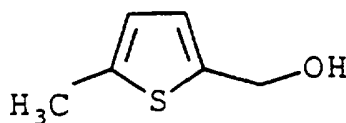
**<sup>1</sup>H-NMR** (D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 7.39 (m; 1H, Th-H), 7.17 (m; 1H, Th-H), 7.00 (m; 1H, Th-H), 4.70 (m; 1H,  $\alpha$ -CH), 4.16 (m; 1H,  $\alpha$ -CH), 3.70 (s; 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.20 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 3.11 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 2.72 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 2.64 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-).

**<sup>13</sup>C-NMR** (D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 178.46 (s; CO), 175.68 (s; CO), 139.08 (s; C-3-Th), 130.92 (d; CH), 129.20 (d; CH), 125.91 (d; CH), 56.55 (q; OCH<sub>3</sub>), 55.69 (d;  $\alpha$ -CH), 53.14 (d;  $\alpha$ -CH), 39.57 (t; -CH<sub>2</sub>-), 33.50 (t; -CH<sub>2</sub>-).

C <sub>12</sub> H <sub>15</sub> N <sub>2</sub> O <sub>5</sub> S•0.70 H <sub>2</sub> O (312.95):	Ber.:	C 46.06	H 5.60	N 8.95
	Gef.:	C 46.06	H 5.53	N 8.81

Beispiel 3: N-L- $\alpha$ -Aspartyl-(L-[2-(5-methyl)-thienyl]alanin, Methylester (3)

## 3.1. 2-Hydroxymethyl-5-methyl-thiophen (10)



Eine Lösung von 50 ml (456 mmol) 5-Methylthiophen-2-carbaldehyd in 350 ml Ethanol wurde unter Eiskühlung und Rühren portionsweise mit 13.2 g (347 mmol) Natriumborhydrid versetzt. Nach vollständiger

Zugabe wurden noch weitere 2 h gerührt und die Reaktionslösung anschließend auf eine Mischung von 400 g Eis und 200 ml gesättigter Ammoniumchloridlösung gegossen. Nach Beeendigung der Gasentwicklung wurde die Lösung im Vakuum von Ethanol befreit. Der wässrige Rückstand wurde mehrmals mit Ether extrahiert, die vereinigten etherischen Phasen mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und über Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde abdestilliert. Zurück blieb ein öliger Rückstand, welcher bei einem Druck von 20 mbar destilliert wurde.

1.Fraktion:	55 - 100 °C	0.3 g
2.Fraktion:	101 - 99 °C	50.0 g

Das Produkt war auch bei Lagerung im Kühlschrank nicht stabil und sollte daher baldmöglichst umgesetzt werden.

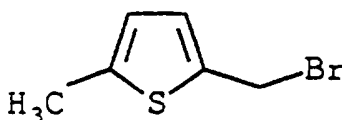
Ausbeute: 50.3 g (86 %), farblose Flüssigkeit

$R_f = 0.512$  (Petrolether:Ether = 1:1).

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 6.81$  (d; 1H, CH), 6.63 (d; 1H, CH), 4.74 (s; 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2.50 (s; 3H,  $\text{CH}_3$ ), 1.75 (bs; 1H, OH).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 141.70$  (s; C), 140.24 (s; C), 125.54 (d; C), 124.82 (d; C), 59.86 (t;  $\text{CH}_2$ ), 15.39 (q;  $\text{CH}_3$ ).

### 3.2. 2-Brommethyl-5-methyl-thiophen (11)



30 g (234 mmol) **10** in 300 ml wasserfreiem Ether wurden unter Eiskühlung mit einer Lösung von 149 g (550 mmol) Phosphortribromid in 350 ml wasserfreiem Ether innerhalb von 90 min versetzt. Nach 2 h Rühren bei Raumtemperatur wurde die Reaktionslösung auf 2 kg Eis gegossen und die organische Phase abgetrennt.

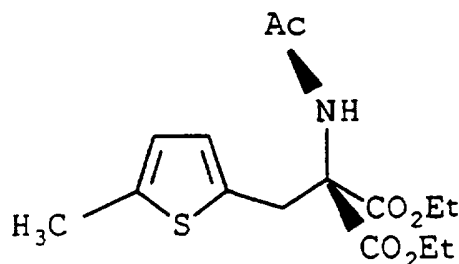
Die wässrige Phase wurde mit Natriumchlorid gesättigt und mehrmals mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel im leichtem Vakuum abgedampft.

Ausbeute: 38 g (95 %), braune Flüssigkeit.

Das Produkt neigt sehr stark zur Polymerisation und sollte daher nicht erwärmt, möglichst unter inerter Atmosphäre isoliert oder sofort weiterverarbeitet werden.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 6.85$  (d; 1H, CH), 6.52 (d; 1H, CH), 4.65 (s; 2H,  $-\text{CH}_2-$ ), 2.40 (s; 3H,  $\text{CH}_3$ ).

## 3.3. 2-(Acetylamino)-3-[2'-(5'-methyl)-thienylmethyl]propandisäure, Diethylester (12)



Zu einer Lösung von 3.56 g (155 mmol) Natrium in 200 ml trockenem Ethanol wurde bei Raumtemperatur 33.6 g (155 mmol) Diethyl-acetamidomalonat gegeben und solange gerührt, bis eine klare Lösung entstanden ist. Anschließend wurden 29.0 g (152 mmol) **11** hinzugefügt und 3 h unter Rückfluß erhitzt. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum abdestilliert, der Rückstand mit Ether/Wasser (3:1) aufgenommen und die wässrige Phase bis zur Erschöpfung mit Ether extrahiert. Die vereinigten organischen Phasen wurden mit gesättigter Natriumchlorid gewaschen, über Natriumsulfat getrocknet und der Ether abdestilliert.

Rohausbeute: 50 g

Da das Produkt mit Thiophenmethanol und dessen Zersetzungsprodukt verunreinigt war, wurde der Rückstand über 500 g Kieselgel mit Petrolether:Ether = 1:1 geflasht.

Ausbeute: 28 g, (55 %), Smp: 98 - 100 °C

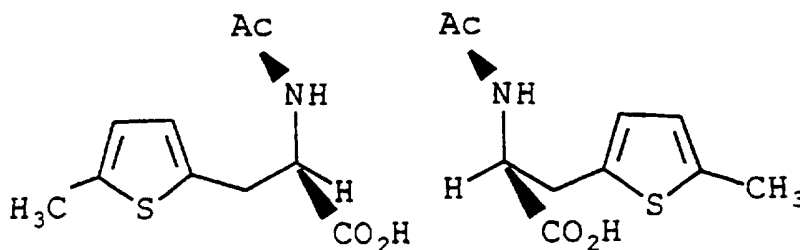
$R_f$  = 0.4651 (Petrolether:Ether = 1:2).

**<sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 6.75 (bs; 1H, NH), 6.55 - 6.50 (m; 2H, Th-H-3,-4), 4.25 (q; 2H, OCH<sub>2</sub>), 3.78 (s; 2H, -CH<sub>2</sub>-), 2.40 (s; 3H, CH<sub>3</sub>), 2.05 (s; 3H, Acetyl-CH<sub>3</sub>), 1.30 (t; 6H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 168.87 (s; CONH), 166.97 (s; COO), 139.22 (s; C), 133.88 (s; C), 126.99 (d; CH), 124.60 (d; CH), 66.83 (s; C), 62.45 (t; OCH<sub>2</sub>), 32.64 (t; -CH<sub>2</sub>-), 22.80 (q; CH<sub>3</sub>), 14.99 (q; CH<sub>3</sub>), 13.76 (q; CH<sub>3</sub>).

C <sub>15</sub> H <sub>21</sub> NO <sub>5</sub> S (327.40):	Ber.:	C 55.03	H 6.47	N 4.28
	Gef.:	C 55.06	H 6.43	N 4.34

## 3.4. (R,S)-2-(Acetylamino)-3-[(5'-methyl)-2'-thienyl]propansäure (13)



32.9 g (100.5 mmol) **12** wurden in 200 ml 10%iger Natronlauge suspendiert und 3 h unter Rückfluß erhitzt, wobei der Feststoff in Lösung ging. Anschließend wurde mit konz. Salzsäure unter Eiskühlung bis pH = 1 angesäuert, wobei ein farbloser Niederschlag entstand. Es wurde erneut 3 h unter Rückfluß erhitzt.

Die Reaktionslösung wurde nach dem Abkühlen auf Raumtemperatur bis zu Erschöpfung mit Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchlorid-Lösung gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wurde im Vakuum entfernt, der Rückstand im Vakuum getrocknet.

Ausbeute: 21.1 g (93 % d. Th.), farbloser Feststoff, Smp: 165 - 166 °C

**<sup>1</sup>H-NMR** (d<sub>6</sub>-DMSO): δ = 8.22 (d; 1H, NH), 6.65 (d; 1H, CH), 6.59 (d; 1H, CH), 4.34 (m; 1H, α-CH), 3.15 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 2.99 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 2.37 (s; 3H, Ac-CH<sub>3</sub>), 1.84 (s; 3H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (d<sub>6</sub>-DMSO): δ = 172.6 (s; COOH), 169.3 (s; CONH), 137.7 (s; C), 137.5 (s; C), 126.0 (d; CH), 124.8 (d; CH), 53.5 (d; α-CH), 31.3 (t; -CH<sub>2</sub>-), 22.4 (q; Ac-CH<sub>3</sub>), 14.8 (q; CH<sub>3</sub>).

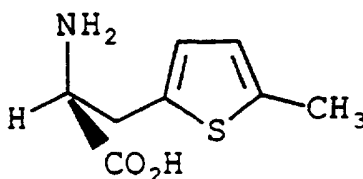
5

C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> NO <sub>3</sub> S (227.29):	Ber.:	C 52.85	H 5.76	N 6.16
	Gef.:	C 52.83	H 5.76	N 6.06

10

### 3.5. (S)-2-Amino-[2'-(5'-methyl)-thienyl]propansäure (14)

15



20

Eine Lösung von 13 g (157 mmol) Natriumcarbonat und 19.0 g (84.0 mmol) **13** in 800 ml Wasser wurde mit 2 N Salzsäure auf pH 7.5 - 8 eingestellt und mit 5.0 g Acylase versetzt. Die Suspension wurde 24 h bei Raumtemperatur gerührt.

25

Anschließend wird mit konzentrierter Salzsäure auf pH 1-2 angesäuert und das denaturierte Enzym durch Filtration entfernt. Das Filtrat wurde erschöpfend mit Ethylacetat extrahiert, die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach Entfernen des Lösungsmittels im Vakuum blieb (**R**)-**13** als ein bräunliches Kristallpulver zurück, welches im Vakuum getrocknet wurde.

30

Ausbeute: 8.9 g (94 %), farbloses Kristallpulver,  
Smp: 164 °C,

35

$$[\alpha]_D^{23}$$

$$= -41^\circ \text{ (c = 1.0, MeOH)}$$

Die wäßrige Phase wurde bis zur Trockne einrotiert, mit 70 ml Wasser aufgenommen und auf 250 ml aktivierten DOWEX 50 -Ionenaustauscher gegeben. Die Suspension wird 30 min bei Raumtemperatur gerührt, der Ionenaustauscher abfiltriert und solange mit Wasser gewaschen, bis das Eluat neutral reagierte. Anschließend wurde der Ionenaustauscher mehrmals mit 1 M Ammoniaklösung digeriert, bis das Filtrat eine negative Ninhydrinprobe aufwies. Die vereinigten ammoniakalischen Filtrate wurden bis zur Trockene im Vakuum einrotiert und die zurückbleibende (S)-Aminosäure im Vakuum getrocknet.

40

Ausbeute: 7.7 g (100%), braunes Kristallpulver, Smp: 252 - 253 °C  
R<sub>f</sub> = 0.281 (EtOAc:MeOH = 1:1)

45

$$[\alpha]_D^{23}$$

50

$$= -3^\circ \text{ (c = 1.0, 2N HCl)}$$

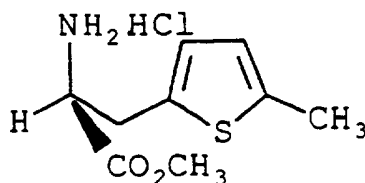
Literatur: Smp: 253-5 °C

**<sup>1</sup>H-NMR** (D<sub>2</sub>O): δ = 6.66 (d; 1H, CH), 6.60 (d; 1H, CH), 3.67 (t; 1H, α-CH), 3.21 (d; 2H, -CH<sub>2</sub>-), 2.35 (s; 3H, CH<sub>3</sub>).

55

**<sup>13</sup>C-NMR** (D<sub>2</sub>O): δ = 180.4 (s; COOH), 142.7 (s; C), 138.5 (s; C), 129.6.1 (d; CH), 127.7 (d; CH), 58.0 (d; α-CH), 35.5 (t; -CH<sub>2</sub>-), 16.9 (q; CH<sub>3</sub>).

## 3.6. (S)-2-Amino-3-[2-(5-methyl)-thienyl]propansäure, Methylester, Hydrochlorid (15)



Durch eine Suspension von 3.1 g (16.7 mmol) **14** in 100 ml wasserfreiem Methanol wurde unter heftigem Rühren 3h ein starker Strom von trockenem Chlorwasserstoff eingeleitet. Anschließend wurde das Reaktionsgemisch bis zur Trockene eingengt, der Rückstand mit Methanol aufgenommen und die Lösung mit Ether versetzt. Dabei fiel das Produkt als farbloser Feststoff aus, welcher abfiltriert und im Vakuum getrocknet wurde.

Ausbeute: 3.8 g (96%), farblose Nadeln, Smp: 170 - 172 °C

$R_f = 0.739$  (EtOAc: MeOH = 1:1)

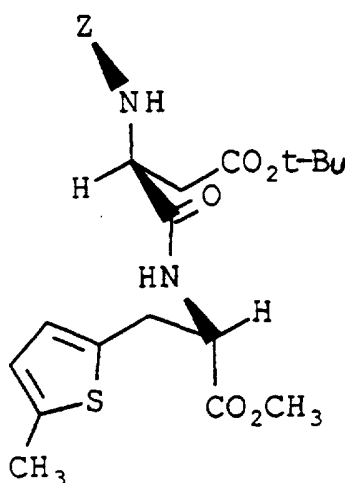
$$[\alpha]_D^{23}$$

$$= + 17.5^\circ \text{ (c = 1.0, MeOH)}$$

**<sup>1</sup>H-NMR** (D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 6.78 (d; 1H, CH), 6.70 (d; 1H, CH), 4.40 (t; 1H,  $\alpha$ -CH), 3.44 (d, 2H, -CH<sub>2</sub>-), 2.40 (s; 3H, CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR** (D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 172.42 (s; CO), 144.16 (s; C), 134.93 (s; C), 131.26 (d; CH), 128.36 (d; CH), 56.60 (q; OCH<sub>3</sub>), 56.47 (d;  $\alpha$ -CH), 32.56 (t; -CH<sub>2</sub>-), 17.05 (q; CH<sub>3</sub>).

C <sub>9</sub> H <sub>14</sub> ClNO <sub>2</sub> S • 0.25 H <sub>2</sub> O (240.24)	Ber.: C 45.00	H 6.08	N 5.83
	Gef.: C 45.08	H 5.91	N 5.92

3.7. L- $\beta$ -tert-Butyl-N-carbobenzoxy- $\alpha$ -aspartyl-L-[2-(5-methyl)thienyl]alanin, Methylester (16)

5.50 g (10.9 mmol) **4** werden in 50 ml wasserfreiem DMF gelöst und bei 0 °C mit 2.6 g (10.9 mmol) **15** und 1.51 ml (10.9 mmol) Triethylamin versetzt und 3 d bei 0 - 4 °C gerührt.



Die Reaktionslösung wurde zwischen 80 ml Eiswasser und 50 ml Ether verteilt, die wässrige Phase mehrmals mit Ether extrahiert und die vereinigten organischen Phasen mit gesättigter Natriumchloridlösung gewaschen. Die Etherlösung wurde mit Natriumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel abdestilliert. Das so

- 5 Ausbeute : 4.2 g (76 %), farbloser Feststoff, Smp: 56 - 57 °C  
 $R_f = 0.462$  (Petrolether:Ether = 1:2),

$$[\alpha]_D^{23}$$

10

$$= + 37.1^\circ, (c = 1.24, \text{CH}_2\text{Cl}_2)$$

- <sup>1</sup>H-NMR** (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 7.38 - 7.33 (m; 5H, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>), 7.08 (bd; 1H, CONH), 6.62 (d; 1H, Th-H), 6.56 (d; 1H, Th-H), 5.97 (d; 1H, CONH), 5.14 (s; 2H, OCH<sub>2</sub>), 4.80 (m; 1H,  $\alpha$ -CH), 4.58 (m; 1H,  $\alpha$ -CH), 3.75 (s; 3H, OCH<sub>3</sub>),  
 15 3.27 (m; 2H, -CH<sub>2</sub>-), 2.90 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 2.64 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 2.41 (s; 3H, CH<sub>3</sub>), 1.44 (s; 9H, CH<sub>3</sub>).

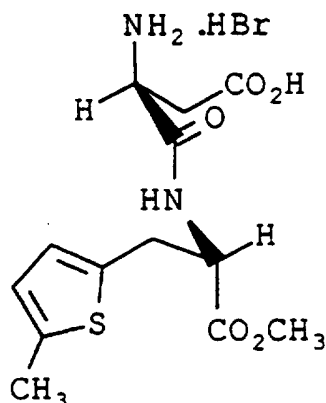
- <sup>13</sup>C-NMR** (CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 171.02 (s; CO), 170.91 (s; CO), 170.25 (s; CO), 155.95 (s; CONH), 139.31 (s; C-2-Th), 136.09 (s; C-1-Ph), 134.59 (s; C-5-Th), 128.55 (d; CH), 128.22 (d; CH), 128.05 (d; CH), 126.93 (d; CH), 125.06 (d; CH), 81.80 (s; OC<sub>quart</sub>), 67.20 (t; OCH<sub>2</sub>), 53.29 (q; OCH<sub>3</sub>), 52.42 (d;  $\alpha$ -CH), 51.04 (d;  $\alpha$ -CH), 37.36  
 20 (t; -CH<sub>2</sub>-), 32.09 (t; -CH<sub>2</sub>-), 27.98 (q; CH<sub>3</sub>), 15.23 (q; CH<sub>3</sub>).

### 3.8. N-L- $\alpha$ -Aspartyl-[2-(5-methyl)thienyl]alanin, Methylester, Hydrobromid (17)

25

30

35



40

Eine Lösung von 4.0 g (7.93 mmol) **16** in 20 ml Eisessig wurde bei Raumtemperatur tropfenweise mit 11.6 ml (47.6 mmol) einer 4.1 M (33 %) Lösung von HBr in Eisessig versetzt und 2 h gerührt.

- Die Lösungsmittel wurden im Wasserstrahlvakuum abdestilliert und der ölige Rückstand mit 100 ml Ether digeriert. Dabei fiel ein farbloses Kristallpulver aus, welches abfiltriert und im Vakuum getrocknet wurde.

45

- Ausbeute : 3.0 g (96 %), beigefarbenes Kristallpulver, Smp: 78 - 79 °C  
 $R_f = 0.387$  (EtOAc:MeOH = 1:1),

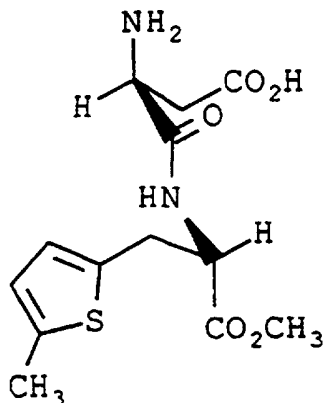
$$[\alpha]_D^{25}$$

50

$$= + 26.7^\circ (c = 0.75, \text{HOAc})$$

- <sup>1</sup>H-NMR** (D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 6.67 (d; 1H, Th-H), 6.62 (d; 1H, Th-H), 4.73 (m; 1H,  $\alpha$ -CH), 4.32 (m; 1H,  $\alpha$ -CH), 3.71 (s; 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.33 (m; 2H, -CH<sub>2</sub>-), 3.00 (m; 2H, -CH<sub>2</sub>-), 2.37 (s; 3H, CH<sub>3</sub>).

- 55 **<sup>13</sup>C-NMR** (D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 175.21 (s; CO), 175.01 (s; CO), 171.04 (s; CO), 142.88 (s; C-2-Th), 138.30 (s; C-5-Th), 129.71 (d; CH), 127.84 (d; CH), 57.14 (d;  $\alpha$ -CH), 55.79 (q; OCH<sub>3</sub>), 52.00 (d;  $\alpha$ -CH), 37.48 (t; -CH<sub>2</sub>-), 33.33 (t; -CH<sub>2</sub>-), 16.96 (q; CH<sub>3</sub>).

3.9. Herstellung von N-L- $\alpha$ -Aspartyl-(L-[2-(5-methyl)-thienyl]alanin, Methylester (3)

20 20 ml stark basischer Ionenaustauscher (Amberlite IRA-400) wurden über Nacht in gesättigter wässriger Natriumacetatlösung gerührt. Anschließend wurde der Ionenaustauscher abfiltriert und mit Wasser neutral gewaschen.

Der so aktivierte Amberlite wurde mit einer Lösung von 2.80 g (7.10 mmol) **17** in 50 ml Wasser 30 min bei 45 °C gerührt. Der Feststoff wurde abfiltriert, mit 30 ml Wasser gewaschen und das Eluat sowie die  
25 Waschlösungen im Vakuum stark eingeeengt. Beim Abkühlen fielen farblose Nadeln aus, welche abfiltriert und getrocknet wurden.

Ausbeute : 1.6 g (72 %), farbloses Nadeln, Smp: 234 - 235 °C  
R<sub>f</sub> = 0.428 (EtOAc:MeOH = 1:1),

$$[\alpha]_D^{25}$$

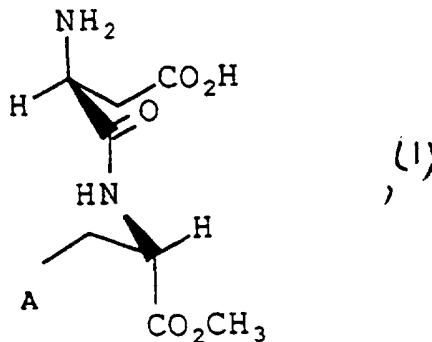
$$= + 45^\circ, (c = 0.75, \text{HOAc})$$

**<sup>1</sup>H-NMR** (D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 6.68 (d; 1H, Th-H), 6.63 (d; 1H, Th-H), 4.67 (m; 1H,  $\alpha$ -CH), 4.19 (m; 1H,  $\alpha$ -CH), 3.72 (s; 3H, OCH<sub>3</sub>), 3.32 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 3.22 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 2.75 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>-), 2.63 (dd; 1H, CH von -CH<sub>2</sub>- Hz).

**<sup>13</sup>C-NMR** (D<sub>2</sub>O):  $\delta$  = 178.49 (s; CO), 175.21 (s; CO), 172.09 (s; CO), 142.87 (s; C-2-Th), 138.37 (s; C-5-Th), 129.66 (d; CH), 127.81 (d; CH), 57.03 (d;  $\alpha$ -CH), 55.74 (q; OCH<sub>3</sub>), 53.21 (d;  $\alpha$ -CH), 39.62 (t; -CH<sub>2</sub>-), 33.45 (t; -CH<sub>2</sub>-), 16.90 (q; CH<sub>3</sub>).

## Patentansprüche

1. L-Aspartyl-L-thienylalaninmethylester der Formel

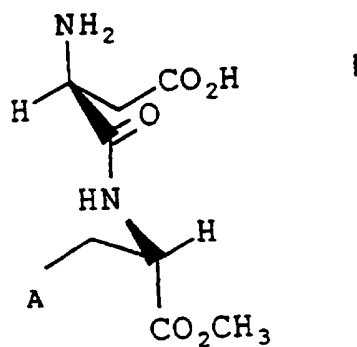


in der A einen Rest der Formel



bedeutet, worin R H oder CH<sub>3</sub> sein kann.

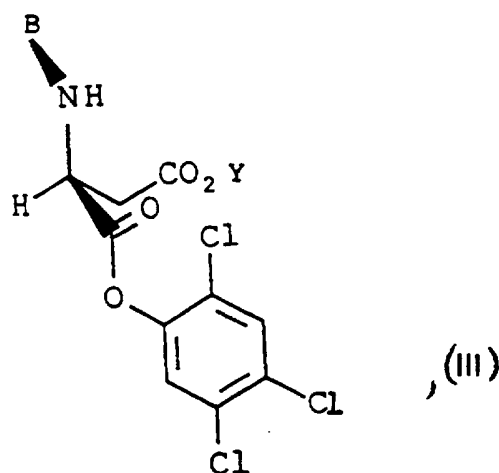
2. Verbindungen der Formel I, nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet**, daß A einen 2'-Thienyl-, 3'-Thienyl- oder 2'-(5'-Methyl)thienylrest bedeutet.
3. Verfahren zur Herstellung von Verbindungen der Formel



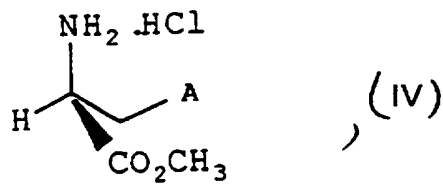
in der A einen Rest der Formel



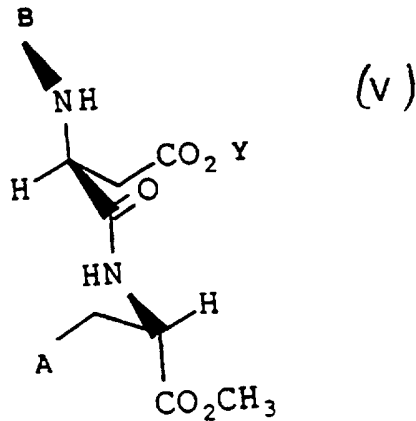
bedeutet, worin R H oder CH<sub>3</sub> sein kann, **dadurch gekennzeichnet**, daß eine Verbindung der Formel



in der B eine Aminoschutzgruppe und Y eine Carboxylschutzgruppe bedeutet, in Gegenwart eines Säurefängers mit einer Verbindung der Formel

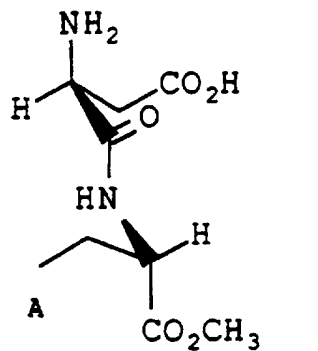


in der A obige Bedeutung hat, zu einer Verbindung der Formel

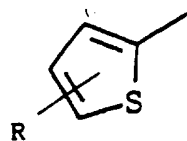


umgesetzt wird, in der A, B und Y obige Bedeutung haben, worauf nach Abspaltung der Schutzgruppen auf acidolytischem Weg, die Isolierung der entsprechenden Verbindung der Formel I aus dem so gewonnenen Salz mittels einer Base erfolgt.

#### 4. Verwendung von Verbindungen der Formel

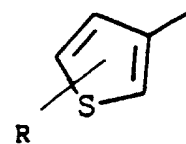


in der A einen Rest der Formel



IIa

Oder



IIb

bedeutet, worin R H oder CH<sub>3</sub> sein kann, als künstlicher Süßstoff.