



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

⑤① Int. Cl.³: C 07 C 103/52

⑬ **Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein**
Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978



⑫ **PATENTSCHRIFT** A5

⑪

618 961

⑳ **Gesuchsnummer:** 2964/76

㉔ **Anmeldungsdatum:** 10.03.1976

㉓ **Priorität(en):** 12.03.1975 DE 2510634

㉒ **Patent erteilt:** 29.08.1980

④⑤ **Patentschrift veröffentlicht:** 29.08.1980

⑦③ **Inhaber:**
Boehringer Mannheim GmbH,
Mannheim-Waldhof (DE)

⑦② **Erfinder:**
Dr.rer.nat. Franz Braun, Rimbach (DE)
Dr.Ing. Kurt Stach, Mannheim-Waldhof (DE)
Dr.rer.nat. Max Thiel, Mannheim (DE)
Dr.med.vet. Gisbert Sponer, Hemsbach (DE)
Dr.med. Karl Dietmann, Mannheim-Vogelstang (DE)

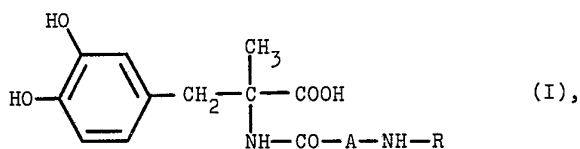
⑦④ **Vertreter:**
Brühwiler & Co., Zürich

⑤④ **Verfahren zur Herstellung neuer L-3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-peptiden.**

⑤⑦ Neue L-3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-peptide der nebenstehenden Formel I, worin die Symbole A und R die in Patentanspruch 1 angegebene Bedeutung haben, werden hergestellt, indem man L-3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-2-methylalanin, gegebenenfalls unter intermediärem Schutz der Hydroxygruppen und/oder der Carboxylgruppe, mit einer Carbonsäure der Formel HOC-A-Z oder einem reaktiven Derivat davon, wobei Z einen reaktiven Rest oder die Gruppe -NHR bedeutet, kondensiert und, falls man von einer Carbonsäure der vorstehenden Formel oder einem reaktiven Derivat davon, worin Z einen reaktiven Rest bedeutet, ausgegangen ist, diesen anschliessend gegen die Gruppe -NHR austauscht.

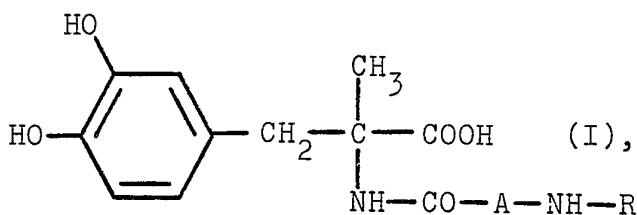
Die so hergestellten neuen Verbindungen der Formel I können als amphotere Verbindungen sowohl in ihre pharmakologisch annehmbaren Basensalze als auch in die entsprechenden Säureadditionssalze übergeführt werden.

Die neuen Verbindungen zeichnen sich durch eine gute blutdrucksenkende Wirkung aus und können zu entsprechenden Arzneimitteln verarbeitet werden.



PATENTANSPRÜCHE

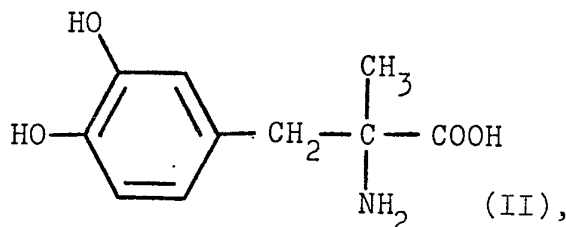
1. Verfahren zur Herstellung neuer L-3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-methyl-alanin-peptide der Formel I



in der

A eine gesättigte, geradkettige oder verzweigte Alkylkette, die durch eine Hydroxygruppe oder durch einen, gegebenenfalls Hydroxygruppen tragenden, Phenylrest substituiert sein kann; und

R ein Wasserstoffatom, eine Niederalkylgruppe oder einen Glycyl- oder Alanylrest bedeuten, sowie von deren pharmakologisch annehmbaren Salzen, dadurch gekennzeichnet, dass man L-3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-methyl-alanin der Formel II



gegebenenfalls unter intermediärem Schutz der Hydroxygruppen und/oder der Carboxylgruppe, mit einer Carbonsäure der Formel III



oder einem reaktiven Derivat davon, wobei Z einen reaktiven Rest oder die Gruppe -NHR bedeutet, kondensiert und, falls man von einer Verbindung der Formel III ausgegangen ist, worin Z einen reaktiven Rest bedeutet, diesen anschliessend gegen die Gruppe -NHR austauscht.

2. Verfahren nach Patentanspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine erhaltene Verbindung der Formel I in ihre pharmakologisch annehmbaren Salze überführt.

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung neuer L-3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-methyl-alanin-peptiden der Formel I, wie in Patentanspruch 1 definiert.

Die erfindungsgemäss erhältlichen neuen Verbindungen und ihre pharmakologisch verträglichen Salze zeichnen sich durch blutdrucksenkende Eigenschaften aus.

Die aus den US-PS 3 803 120 und 3 981 696 bekannten DOPA-Derivate sind mit den erfindungsgemäss erhältlichen Verbindungen zwar chemisch verwandt, weisen jedoch ein vollständig anderes Wirkungsspektrum auf und werden als Antiparkinson-Mittel verwendet.

In den Verbindungen der Formel I können sämtliche Kohlenstoffatome der Reste A und R, die ein Asymmetriezentrum enthalten, L- oder D-Konfiguration aufweisen, wobei die L-Konfiguration bevorzugt ist. Die Verbindungen der Formel I können sowohl in Form ihrer Racemate als auch in Form der reinen L- bzw. D-Enantiomeren erhalten werden.

Die Alkylengruppe A enthält bevorzugt 1 bis 5 Kohlen-

stoffatome, während die Niederalkylgruppe R bevorzugt 1 bis 3 Kohlenstoffatome aufweist, wobei die Methylgruppe besonders bevorzugt ist.

Die neuen Verbindungen der Formel I werden mit Hilfe des im Patentanspruch 1 definierten Verfahrens hergestellt.

Bei der Durchführung des erfindungsgemässen Verfahrens arbeitet man zweckmässigerweise nach den in der Peptidchemie gebräuchlichen Methoden. Die Umsetzung wird bevorzugt in inerten Lösungsmitteln, z. B. Dioxan, und in Gegenwart wasserabspaltender Mittel, z. B. Dicyclohexylcarbodiimid, bei Raumtemperatur durchgeführt.

Als Schutzgruppen für den intermediären Schutz der Hydroxygruppen kommen allgemein die üblicherweise verwendeten Schutzgruppen, z. B. die Benzyl- oder Benzyloxycarbonylgruppe, in Betracht.

Der intermediäre Schutz der Carboxylgruppe in der Verbindung der Formel II kann beispielsweise durch Veresterung, vorzugsweise mit einem niederen aliphatischen Alkohol oder Benzylalkohol, erfolgen.

Für den intermediären Schutz der NHR-Gruppe kommen die üblichen Aminoschutzgruppen, z. B. die Benzyloxycarbonylgruppe, in Betracht.

Als reaktive Derivate der Carbonsäuren der Formel III werden bevorzugt die Säurehalogenide, Säureanhydride oder Carbonsäureester eingesetzt.

Als reaktive Reste Z in den Verbindungen der Formel III kommen insbesondere Säurereste, wie die Reste von Halogenwasserstoffsäuren und Sulfonsäuren, in Betracht.

Da die Verbindungen der Formel I amphoteren Charakter besitzen, können sie sowohl mit Säuren als auch mit Basen in ihre pharmakologisch verträglichen Salze übergeführt werden. Zur Herstellung von Säureadditionssalzen setzt man die Verbindungen der Formel I zweckmässigerweise mit der äquivalenten Menge einer pharmakologisch annehmbaren organischen oder anorganischen Säure, vorzugsweise in einem organischen Lösungsmittel, um. Als Säuren eignen sich beispielsweise Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Phosphorsäure, Schwefelsäure, Essigsäure, Citronensäure, Maleinsäure und Benzoesäure. Die Neutralisation der Carboxylgruppe zur Herstellung der entsprechenden Basensalze kann beispielsweise durch Umsetzung mit Basen der Alkali- und Erdalkalireihe sowie mit Ammoniak oder mit organischen Aminen erfolgen.

Werden die erfindungsgemäss erhältlichen neuen Verbindungen der Formel I zu Arzneimitteln verarbeitet, so kann die Konfektionierung nach den in der Galenik üblichen Methoden erfolgen. Dabei geht man zweckmässigerweise so vor, dass man die Verbindungen der Formel I mit geeigneten pharmazeutischen Trägerstoffen, Aroma-, Geschmacks- und Farbstoffen vermischt und zu Tabletten oder Dragées ausformt oder unter Zugabe entsprechender Hilfsstoffe in Wasser oder Öl, z. B. Olivenöl, suspensiert oder löst.

Ausser den in den Beispielen genannten Verbindungen ist die nachstehend aufgeführte Verbindung von besonderem Interesse:

Glycyl-glycyl-L-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-methyl-alanin.

Die nachfolgenden Beispiele dienen zur näheren Erläuterung der Erfindung. In diesen Beispielen werden die folgenden Abkürzungen verwendet:

DC = Dünnschichtchromatographie

DCC = N,N'-Dicyclohexylcarbodiimid

Cbo = Benzyloxycarbonyl

THF = Tetrahydrofuran.

Beispiel 1

Glycyl-L-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-methyl-alanin
Variante I

11,25 g (0,05 Mol) L-3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-methyl-alanin-methylester (Schmp. 164–166°C, $[\alpha]_D^{20}$ –6,3°

[$c = 1$, in 1n HCl)] werden in einem 500-ml-Dreihalskolben, der mit Rührer und Chlorcalciumrohr versehen ist, in 250 ml absolutem Dioxan suspendiert. Nacheinander werden 12,52 g (0,06 Mol) Benzyloxycarbonyl-glycin und 10,3 g (0,05 Mol) N,N'-Dicyclohexylcarbo-diimid (DCC) zugegeben und bei Raumtemperatur und Feuchtigkeitsausschluss gerührt. Bereits nach wenigen Minuten beginnt N,N'-Dicyclohexylharnstoff auszukristallisieren.

Nach weiterem 4stündigem Rühren und 16stündigem Stehen bei Raumtemperatur wird der Harnstoff abgesaugt (10,0 g, 89,4%) und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Der stark viskose Rückstand wird in 150 ml Essigester aufgenommen und nacheinander viermal mit 20 ml etwa 5%iger Natriumhydrogencarbonatlösung, viermal mit 20 ml 1n Salzsäure und dann zweimal mit 30 ml Wasser gewaschen. Die Essigesterphase, die das gewünschte Reaktionsprodukt enthält, wird nach dem Trocknen mit Natriumsulfat im Vakuum eingedampft. Man erhält 20,82 g (100,0% d. Th.) Benzyloxycarbonyl-glycyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester als farbloses, amorphes Pulver, das (dünn-schichtchromatographisch geprüft) nur geringfügig verunreinigt ist.

Zur vollständigen Reinigung kann man das Rohprodukt in 100 ml Chloroform-Methanol-Gemisch (15:1) lösen und an einer Säule (90 × 5,5 cm) mit Kieselgel 60 (70–230 mesh, Merck), mit dem gleichen Lösungsmittel-Gemisch chromatographieren: Ausbeute 17,5 g (84,1% d. Th.) farbloses, amorphes Pulver.

Zur Hydrolyse der Methylester-Gruppe werden 10,4 g (0,025 Mol) Benzyloxycarbonyl-glycyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester in einen Dreihalskolben gegeben, der mit Rührer, Tropftrichter und einer Gaszuleitung versehen ist. Nach der vollständigen Entfernung der Luft durch einen schwachen Stickstoffstrom lässt man durch den Tropftrichter 95 ml 1n Natronlauge zufließen und rührt die Lösung 30 Minuten bei Raumtemperatur. Darauf werden 95 ml 1n Salzsäure zutropft. Das rohe Hydrolyseprodukt scheidet sich als sehr zähes Öl ab, das man in 100 ml Essigester aufnimmt und zur weiteren Reinigung aus der Essigesterlösung dreimal mit 30 ml 10%iger Natriumhydrogencarbonatlösung extrahiert. Aus dem vereinigten wässrigen Extrakt wird durch vorsichtiges Ansäuern mit 1n Salzsäure die freie Carbonsäure abgeschieden, in etwa 100 ml Essigester aufgenommen und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach dem vollständigen Abdestillieren des Lösungsmittels im Vakuum erhält man 9,0 g (89,5% d. Th.) dünn-schichtchromatographisch (DC) einheitliches Benzyloxycarbonylglycyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin als farblosen, amorphen Schaum.

Zur Hydrogenolyse der Benzyloxycarbonyl-Gruppe (Cbo) werden 2,5 g Palladiumoxid in 130 ml Methanol bei Raumtemperatur und normalem Druck vorhydriert. Dann wird die Lösung von 20,12 g (0,05 Mol) Benzyloxycarbonylglycyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin in 170 ml Methanol hinzugefügt und bei Raumtemperatur in der üblichen Weise etwa 4 Stunden unter Durchleitung von Wasserstoff bis zur Beendigung der Abspaltung von Kohlendioxid hydriert. Der Katalysator wird dann abgesaugt und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Man erhält 13,45 g (100% d. Th.) farbloses, amorphes Rohprodukt, das in 28 ml Wasser aufgenommen und auf 0°C gekühlt wird. Aus der Lösung kristallisiert 11,88 g dünn-schichtchromatographisch und analytisch reines Glycyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-dihydrat, Schmp. 187°C, $[\alpha]_D^{20} -8,0^\circ$ ($c = 1$, in H₂O).

Variante II

In einem 2 Liter-Vierhalskolben mit Rührer, 2 Tropftrichtern, Gaszuleitung, pH-Elektrode und Thermometer werden 45 g (0,2 Mol) L-3-(3,4-Dihydroxyphenyl)-2-methyl-alanin-methylester mit 300 ml Wasser und 500 ml Chloroform ver-

setzt und unter kräftigem Rühren auf 0°C abgekühlt. Dann tropft man in 1 Stunde 12,34 g (0,11 Mol) Chloracetylchlorid in 12 ml Chloroform gelöst zu. Nach weiteren 45 Minuten leitet man zur Luftverdrängung einen schwachen Stickstoffstrom ein und tropft abwechselnd 14,8 g (0,13 Mol) Chloracetylchlorid gelöst in 15 ml Chloroform und die Lösung von 36,96 g (0,26 Mol) Natriumcarbonat in 118 ml Wasser bei 0°C innerhalb 1,25 h zu (pH der Lösung 7,5–8,5). Man lässt ohne Kühlung 1,5 Stunden weiterrühren. Darauf wird der nicht umgesetzte Methylester (20,0 g = 44,4%) abgesaugt und die Chloroformlösung abgetrennt und zur Trockne gebracht.

Man erhält 33,0 g (54,8% d. Th.) N-Chloracetyl-L-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-methyl-alanin-methylester als gelbliches viskoses Öl.

30,17 g (0,1 Mol) Methylester werden in einer Stickstoffatmosphäre in 305 ml 1n Natronlauge 1 Stunde bei Raumtemperatur hydrolysiert, dann neutralisiert man mit etwa 77 ml 4n Salzsäure und extrahiert das abgeschiedene Öl zweimal mit 150 ml Essigester. Der mit Natriumsulfat getrocknete Extrakt wird im Vakuum eingedampft. Man erhält 26,1 g (91,0% d. Th.) N-Chloracetyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin als gelbliches Öl.

28,7 g (0,1 Mol) N-Chloracetyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin werden in einer Stickstoffatmosphäre in 260 ml konz. Ammoniak gelöst und 5 Tage bei Raumtemperatur reagieren lassen. Darauf wird im Vakuum eingedampft und das Rohprodukt säulenchromatographisch gereinigt (Säule 60 × 6,4 cm, Kieselgel 60, Merck, Laufmittel: n-Butanol-Eisessig-Wasser 2:1:1). Das DC-reine Eluat ergibt nach dem Eindampfen im Vakuum und Umkristallisieren aus 35 ml Wasser 22,8 g (75,0% d. Th.) Glycyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-dihydrat, Schmp. 186–187°C.

Beispiel 2

L-Alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin 11,25 g (0,05 Mol) L-3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester und 13,38 g (0,06 Mol) Benzyloxycarbonyl-L-alanin (Schmp. 84–86°C, $[\alpha]_D^{20} -15,6^\circ$ [$c = 2$, Essigsäure]) werden mit 10,3 g (0,05 Mol) DCC in der gleichen Weise wie in Beispiel 1, I angegeben umgesetzt und aufgearbeitet. Man erhält 21,5 g (100% d. Th.) farbloses Rohprodukt, die nach der säulenchromatographischen Reinigung 16,51 g (76,9% d. Th.) reinen Benzyloxycarbonyl-L-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester ergeben.

10,75 g (0,025 Mol) Benzyloxycarbonyl-L-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester werden wie in Beispiel 1, I beschrieben mit 95 ml 1n Natronlauge 50 Minuten bei Raumtemperatur hydrolysiert und aufgearbeitet. Man erhält 9,46 g (91,0% d. Th.) dünn-schichtchromatographisch einheitliches Benzyloxycarbonyl-L-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin (farbloser Schaum).

20,8 g (0,05 Mol) Benzyloxycarbonyl-L-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin werden zur Hydrogenolyse der Cbo-Gruppe wie in Beispiel 1, I beschrieben 1,5 Stunden bei Raumtemperatur hydriert und aufgearbeitet. Man erhält 13,38 g (94,7% d. Th.) Rohprodukt, das aus 13,5 ml Wasser umkristallisiert 11,7 g analytisch reines L-Alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-trihydrat ergibt; Schmp. 82–87°C (im zugeschmolzenen Röhrchen), $[\alpha]_D^{20} -26,9^\circ$ ($c = 1$, in H₂O).

Beispiel 3

D-Alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin 15,75 g (0,07 Mol) L-3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester und 16,83 g (0,075 Mol) Cbo-D-alanin (Schmp. 84–86°C, $[\alpha]_D^{20} +14,8^\circ$ [$c = 2$, Essigsäure]) werden in 350 ml Dioxan mit 14,4 g (0,07 Mol) DCC wie in

Beispiel 1, I angegeben umgesetzt und dann aufgearbeitet. Man erhält 30,1 g (100% d. Th.) farbloses Rohprodukt. Die säulenchromatographische Reinigung ergibt 29,1 g (96,6%) DC-reinen Benzoyloxycarbonyl-D-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester als farbloses Pulver.

10,75 g (0,025 Mol) Cbo-D-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester werden wie in Beispiel 1, I beschrieben mit 95 ml 1n Natronlauge 2 Stunden bei Raumtemperatur hydrolysiert und aufgearbeitet. Man erhält 9,46 g (91,0% d. Th.) DC-einheitliches Cbo-D-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin als farblosen Schaum.

Die Hydrogenolyse der Cbo-Gruppe wird mit 20,8 g (0,05 Mol) Cbo-D-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin wie in Beispiel 1, I beschrieben durchgeführt und aufgearbeitet. Man erhält 14,05 g (99,6% d. Th.) Rohprodukt, das aus etwa 20 ml Wasser umkristallisiert wird. Ausbeute 8,35 g farbloses, analytisch reines D-Alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-monohydrat, Schmp. etwa 205°C, $[\alpha]_D^{20} + 33,7^\circ$ ($c = 1$, in H_2O).

Beispiel 4

L-N-Methyl-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin

15,75 g (0,07 Mol) L-3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester und 18,79 g (0,077 Mol) Cbo-L-N-methyl-alanin (Öl, $[\alpha]_D^{20} -24,8^\circ$ [$c = 1$, in Dimethylformamid]) werden in 350 ml wasserfreiem Dioxan mit 14,42 g (0,07 Mol) DCC wie in Beispiel 1, I beschrieben zur Reaktion gebracht und dann aufgearbeitet. Man erhält 29,21 g (94,0% d. Th.) farbloses Rohprodukt. Die säulenchromatographische Reinigung (Laufmittel: Chloroform-Methanol 20:1) ergibt 14,18 g (46,5% d. Th.) DC-reinen Cbo-L-N-methyl-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester (amorphes Pulver).

11,1 g (0,025 Mol) Cbo-L-N-methyl-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxyphenyl)-2-methyl-alanin-methylester werden wie in Beispiel 1, I beschrieben 1,5 Stunden bei Raumtemperatur hydrolysiert und aufgearbeitet. Ausbeute 9,20 g (85,5% d. Th.) pulveriges, DC-einheitliches Cbo-L-N-methyl-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin.

Die Hydrogenolyse der Cbo-Gruppe wird mit einer Lösung von 10,27 g (0,025 Mol) Cbo-L-N-methyl-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin in 90 ml Methanol und 30 ml Wasser analog Beispiel 1, I mit 1,25 g Palladiumoxid in 100 ml Methanol durchgeführt und aufgearbeitet. Man erhält 7,11 g (96,0% d. Th.) Rohprodukt, das säulenchromatographisch gereinigt wird (Säule: 90 x 3 cm, Kieselgel 60, 70–230 mesh. Merck; Laufmittel: Aceton-Wasser 4:1). Das DC-reine Eluat wird im Vakuum eingedampft, der Rückstand in wenig Wasser gelöst, mit Äthanol langsam gefällt und zur Trockne eingedampft. Dabei erhält man 5,69 g (76,8% d. Th.) pulveriges L-N-Methyl-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin, das nach dem Trocknen bei Raumtemperatur noch 0,95 Mol Wasser und 0,63 Mol Äthanol enthält, $[\alpha]_D^{20} + 38,9^\circ$ ($c = 1$, in Methanol).

Beispiel 5

β -Alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin
15,75 g (0,07 Mol) L-3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester und 17,20 g (0,077 Mol) Cbo- β -alanin (Schmp. 106°C) werden in 350 ml Dioxan mit 14,4 g (0,07 Mol) DCC wie im Beispiel 1, I zur Reaktion gebracht und aufgearbeitet. Rohausbeute 27,8 g (92,4% d. Th.) farbloses Pulver. Die säulenchromatographische Reinigung ergibt 15,15 g (50,3% d. Th.) DC-reinen Cbo- β -alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester.

10,75 g (0,025 Mol) Cbo- β -alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester werden wie in Beispiel

1, I angegeben 1,5 Stunden bei Raumtemperatur hydrolysiert und aufgearbeitet. Ausbeute 8,90 g (85,6% d. Th.) DC-einheitliches Cbo- β -alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin (farbloser Schaum).

Die Hydrogenolyse der Cbo-Gruppe wird mit einer Lösung von 12,49 g (0,03 Mol) Cbo- β -alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin in 110 ml Methanol und 40 ml Wasser und mit 1,5 g Palladiumoxid in 100 ml Methanol entsprechend Beispiel 1, I durchgeführt. Der abgesaugte Katalysator wird mit 200 ml Wasser gut ausgewaschen und das Filtrat im Vakuum eingedampft. Man erhält 7,88 g (92,9% d. Th.) kristallisiertes Rohprodukt, das, aus 100 ml Wasser umkristallisiert, 6,64 g (78,4% d. Th.) farbloses, analytisch reines β -Alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-dihydrat ergibt, Schmp. 147°C, $[\alpha]_D^{20} -37,7^\circ$ ($c = 1$, in Essigsäure).

Beispiel 6

L-Seryl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin
14,63 g (0,065 Mol) L-3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methyl-ester und 22,39 g (0,068 Mol) N-Benzoyloxycarbonyl-O-benzyl-L-serin werden in 325 ml Dioxan mit 13,36 g (0,065 Mol) DCC wie in Beispiel 1, I angegeben zur Reaktion gebracht und aufgearbeitet. Rohausbeute 34,15 g (100% d. Th.) farbloser Schaum. Die säulenchromatographische Reinigung (Säule: 90 x 4,5 cm, Kieselgel 60 Merck; Laufmittel: Chloroform-Methanol 49:1) ergibt 21,88 g (64,1% d. Th.) DC-reinen N-Cbo-O-benzyl-L-seryl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester als amorphes Pulver.

13,40 g (0,025 Mol) N-Cbo-O-benzyl-L-seryl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester werden in 100 ml THF gelöst und wie in Beispiel 1, I beschrieben mit 50 ml 2n Natronlauge 3 Stunden bei 35°C hydrolysiert. Dann neutralisiert man mit etwa 50 ml 2n Salzsäure und destilliert im Vakuum das THF vollständig ab. Nach der Zugabe von etwa 40 ml Wasser wird das rohe Hydrolyseprodukt in 100 ml Essigester aufgenommen und weiter wie im Beispiel 1, I aufgearbeitet. Ausbeute 10,20 g (78,4% d. Th.) DC-einheitliches N-Cbo-O-benzyl-L-seryl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin (farbloser Pulver).

Die Hydrogenolyse der N-Cbo- und O-Benzyl-Gruppe wird entsprechend Beispiel 1, I durchgeführt, indem man die Lösung von 13,06 g (0,025 Mol) N-Cbo-O-benzyl-L-seryl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin in 150 ml Dioxan und 25 ml 1n Salzsäure zu frisch vorhydriertem Palladium gibt (1,25 g Palladiumoxid in 90 ml Dioxan und 30 ml Wasser), etwa 6 Stunden bei 25°C Wasserstoff durchleitet. Nach dem Absaugen des Katalysators wird das Filtrat mit etwa 25 ml 1n Natronlauge neutralisiert und im Vakuum zur Trockne gebracht. Den Rückstand löst man in 70 ml Wasser und kühlt zur Kristallisation auf 0°C ab. Man erhält 2,24 g (30,1% d. Th.) farbloses, analytisch und DC-reines L-Seryl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin, das nach dem Trocknen im Vakuum-Exsikkator noch 2,3 Mol Wasser enthält, Schmp. 196–197°C (Zers.), $[\alpha]_D^{20} -4,4^\circ$ ($c = 1$, in Essigsäure).

Beispiel 7

L-Leucyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin
Wie in Beispiel 1, I werden 16,90 g (0,075 Mol) L-3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester und 21,87 g (0,083 Mol) Cbo-L-leucin ($[\alpha]_D^{20} -18,4^\circ$ [$c = 1$, in Essigsäure]) in 380 ml Dioxan mit 15,45 g (0,075 Mol) DCC der Peptidsynthese unterworfen. Rohausbeute 35,4 g (100% d. Th.) farbloses Pulver. Die säulenchromatographische Reinigung (wie im Beispiel 1, I) ergibt 21,70 g (61,4% d. Th.) DC-reinen Cbo-L-leucyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester als amorphes Pulver.

18,88 g (0,04 Mol) Cbo-L-leucyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phe-

nyl)-2-methyl-alanin-methylester werden wie in Beispiel 1, I angegeben mit 152 ml 1n Natronlauge 2 Stunden bei Raumtemperatur hydrolysiert und dann aufgearbeitet. Man erhält 14,32 g (78,2% d. Th.) DC-einheitliches Cbo-L-leucyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methylalanin als amorphes Pulver.

Die Abspaltung der Cbo-Gruppe wird wie in Beispiel 1, I durchgeführt. 2,0 g Palladiumoxid werden in 110 ml Methanol und 25 ml Wasser vorhydriert. Dazu gibt man die Lösung von 18,34 g (0,04 Mol) Cbo-L-leucyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin in 120 ml Methanol und 50 ml Wasser und hydriert 2 Stunden. Nach der Aufarbeitung erhält man 13,0 g (100% d. Th.) Rohprodukt, das aus 30 ml Wasser umkristallisiert wird. Ausbeute 8,34 g farblores, DC- und analytisch reines L-Leucyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin, das nach dem Trocknen im Vakuum-Exsikkator 2,5 Mol Wasser enthält, Schmp. 106–107°C (im zugeschmolzenen Röhrchen), $[\alpha]_D^{20} -21,4^\circ$ ($c = 1$, in H_2O).

Beispiel 8

L-Phenylalanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin

Wie in Beispiel 1, I werden 15,78 g (0,07 Mol) L-3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester und 23,92 g (0,08 Mol) Cbo-L-phenylalanin (Schmp. 85–87°C, $[\alpha]_D^{20} +4,6^\circ$ [$c = 1,5$, in Essigsäure]) in 350 ml Dioxan mit 14,42 g (0,07 Mol) DCC der Peptidsynthese unterworfen. Rohausbeute 35,45 g (100% d. Th.) farbloser Schaum. Die säulenchromatographische Reinigung (durchgeführt wie in Beispiel 1, I) liefert 33,67 g (95% d. Th.) Cbo-L-phenyl-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester als amorphes Pulver.

20,26 g (0,04 Mol) Cbo-L-phenylalanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester werden entsprechend Beispiel 1, I mit 152 ml 1n Natronlauge 3 Stunden bei Raumtemperatur hydrolysiert und aufgearbeitet. Man erhält 16,35 g (83% d. Th.) Cbo-L-phenylalanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin als gelbliches, DC-einheitliches Pulver.

19,70 g (0,04 Mol) Cbo-L-phenylalanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin werden zur Hydrogenolyse der Cbo-Gruppe wie in Beispiel 1, I angegeben 5 Stunden bei Raumtemperatur hydriert (2,0 g Palladiumoxid in 230 ml Methanol) und aufgearbeitet. Man erhält 14,08 g (98,1% d. Th.) Rohprodukt. Die Substanz wird aus einer alkoholischen Lösung mit Äther umgefällt und 2 Stunden bei 80°C im Ölpumpenvakuum über Diphosphorpentoxid getrocknet. Ausbeute 9,61 g reines L-Phenylalanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-monohydrat, Schmp. 160–163°C (Zers.), $[\alpha]_D^{20} +8,1^\circ$ ($c = 1$, in Methanol).

Beispiel 9

L-Tyrosyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin

9,0 g (0,04 Mol) L-3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester und 22,08 g (0,063 Mol) N-Cbo-L-tyrosin-dihydrat $[\alpha]_D^{20} +3,8^\circ$ [$c = 1,5$, in Essigsäure]) werden in 200 ml Dioxan und 11,3 g (0,055 Mol) DCC zur Umsetzung gebracht und wie in Beispiel 1, I aufgearbeitet und säulenchromatographiert. Man erhält 19,7 g (94,2% d. Th.) Cbo-L-tyrosyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester (farblores Pulver).

20,90 g (0,04 Mol) N-Cbo-L-tyrosyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester werden entsprechend Beispiel 1, I mit 192 ml 1n Natronlauge 2,5 Stunden bei Raumtemperatur hydrolysiert und aufgearbeitet. Man erhält 18,20 g (89,5% d. Th.) DC-einheitliches Cbo-L-tyrosyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin (farblores Pulver).

Die Hydrogenolyse der Cbo-Gruppe wird wie in Beispiel 1, I durchgeführt. 1,5 g Palladiumoxid werden in 100 ml Methanol und 20 ml Wasser vorhydriert. Dazu gibt man eine Lösung von 15,25 g (0,03 Mol) N-Cbo-L-tyrosyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin in 150 ml Methanol und 30 ml Wasser und hydriert 3 Stunden. Nach der Aufarbeitung erhält man 10,4 g (92,5% d. Th.) farblores Rohprodukt, das aus 20 ml Wasser umkristallisiert wird. Ausbeute 8,1 g (72,6% d. Th.) DC- und analytisch reines L-Tyrosyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin, Schmp. 205°C (Zers., beim raschen Erhitzen), $[\alpha]_D^{20} +6,5^\circ$ ($c = 1$, in Methanol).

Beispiel 10

L-[3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanyl]-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin

13,50 g (0,06 Mol) L-3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester und 22,80 g (0,066 Mol) N-Cbo-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin werden in 300 ml Dioxan mit 12,36 g (0,06 Mol) DCC wie in Beispiel 1, I zur Umsetzung gebracht und aufgearbeitet. Die säulenchromatographische Reinigung des Rohprodukts (Säule: 90 × 5,5 cm, Kieselgel 60 Merck; Laufmittel: Chloroform-Methanol 10:1) ergibt 10,62 g (32,1% d. Th.) pulverigen, DC-reinen N-Cbo-L-[3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanyl]-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methyl-ester.

22,10 g (0,04 Mol) dieses Esters werden entsprechend Beispiel 1, I mit 232 ml 1n Natronlauge 3,5 Stunden bei Raumtemperatur hydrolysiert und aufgearbeitet. Man erhält 16,5 g (76,7% d. Th.) DC-einheitliches N-Benzoyloxycarbonyl-L-[3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanyl]-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin (= N-Cbo-L- α -methyl-dopyl-L- α -methyl-dopa).

Die Hydrogenolyse der Cbo-Gruppe wird wie in Beispiel 1, I vorgenommen. 1,25 g Palladiumoxid werden in 100 ml Methanol und 30 ml Wasser vorhydriert. Dazu gibt man eine Lösung von 13,46 g (0,025 Mol) N-Cbo-L- α -methyl-dopyl-L- α -methyl-dopa in 90 ml Methanol und hydriert 3–4 Stunden. Nach der Aufarbeitung erhält man ein bräunliches Rohprodukt, das säulenchromatographisch gereinigt wird (Säule: 90 × 5,5 cm, Kieselgel 60 Merck; Laufmittel: Aceton-Wasser 8:1). Das aufgefangene DC-reine Eluat wird im Vakuum eingedampft, in 50 ml Wasser aufgenommen, mit etwas Kohle behandelt und im Vakuum zur Trockne gebracht. Man erhält 5,38 g pulveriges, analytisch reines L-[3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanyl]-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin (= L- α -Methyl-dopyl-L- α -methyl-dopa), das nach dem Trocknen im Vakuum-Exsikkator noch 2,36 Mol Wasser enthält, $[\alpha]_D^{20} +34,4^\circ$ ($c = 1$, in H_2O).

Das als Ausgangsmaterial verwendete N-Cbo-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin kann auf folgende Weise hergestellt werden:

In einem 1-Liter-Dreihalskolben, der mit Rührer, 2 Tropftrichtern und einer Gaszuleitung versehen ist, gibt man 23,8 g L-3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin (Wassergehalt 11,8%, MG 238). Nach der vollständigen Entfernung der Luft durch einen schwachen Stickstoffstrom lässt man durch den Tropftrichter unter Eiskühlung 150 ml 2n Natronlauge zufließen und kühlt die Lösung auf 0°C ab. Innerhalb 25 Minuten tropft man unter starkem Rühren und Eiskühlung abwechselnd in kleinen Portionen eine Lösung von 66 ml Chlorameisensäurebenzylester in 66 ml Toluol und 150 ml 2n Natronlauge zu. Nach weiteren 30 Minuten Rühren wird mit 6n Salzsäure schwach angesäuert und das Reaktionsprodukt dreimal mit 200 ml Äther extrahiert. Den Ätherextrakt schüttelt man dreimal mit je 50 ml 0,5n Salzsäure durch und dampft die Ätherlösung nach dem Trocknen mit Natriumsulfat im Vakuum ein. Man erhält 59,57 g (97,4% d. Th.) N-Benzoyloxycarbonyl-L-3-(3,4-di-benzyloxy-carbonyloxy-phenyl)-2-methyl-alanin als DC- und analytisch reines, gelbliches Harz.

Die Abspaltung der beiden O,O'-Cbo-Gruppen wird mit der in Beispiel 1, I angegebenen Apparatur und Arbeitsweise durchgeführt. 12,26 g (0,02 Mol) N-Benzoyloxycarbonyl-L-

3-(3,4-di-benzyloxy-carboxyloxy-phenyl)-2-methyl-alanin werden in 550 ml THF und 980 ml Wasser gelöst und mit 160 ml 1n Natronlauge eine Stunde bei Raumtemperatur hydrolysiert. Dann neutralisiert man mit etwa 160 ml 1n Salzsäure und destilliert im Vakuum das THF vollständig ab. Nach der Zugabe von etwa 40 ml Wasser wird das rohe Hydrolyseprodukt in 100 ml Essigester aufgenommen und weiter wie in Beispiel 1, I aufgearbeitet. Man erhält 5,80 g (84,1% d. Th.) DC-einheitliches N-Cbo-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin als stark viskoses gelbliches Öl.

Beispiel 11

L-Alanyl-L-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin

11,25 g (0,05 Mol) L-3-(3,4-Dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester und 16,18 g (0,055 Mol) Cbo-L-alanyl-L-alanin (Schmp. 152–153°C, $[\alpha]_D^{20} -34,5^\circ$ [c = 1, in Methanol]) werden wie in Beispiel 1, I beschrieben in 250 ml Dioxan mit 10,3 g (0,05 Mol) DCC einer Peptidsynthese unterworfen, aufgearbeitet und gereinigt. Man erhält 11,76 g

(46,9% d. Th.) pulvrigen, DC-reinen Cbo-L-alanyl-L-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester.

12,5 (0,025 Mol) Cbo-L-alanyl-L-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin-methylester werden wie in Beispiel 1, I beschrieben mit 190 ml 0,5n Natronlauge 50 Minuten bei Raumtemperatur hydrolysiert und aufgearbeitet. Ausbeute 4,90 g (40,3% d. Th.) DC-einheitliches N-Cbo-L-alanyl-L-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin.

Die Hydrogenolyse der Cbo-Gruppe erfolgt analog Beispiel 1, I. 1,0 g Palladiumoxid wird in 50 ml Methanol und 5 ml Wasser vorhydriert. Dazu gibt man eine Lösung von 9,75 g (0,02 Mol) N-Cbo-tripeptid in 80 ml Methanol und hydriert 3–4 Stunden. Das farblose Rohprodukt wird säulenchromatographisch gereinigt (Säule: 90 × 3,5 cm, Kieselgel 60 Merck; Laufmittel: Aceton-Wasser 4:1). Das DC-reine Eluat wird im Vakuum eingedampft und im Exsikkator getrocknet. Man erhält 6,14 g analysenreines L-Alanyl-L-alanyl-L-3-(3,4-dihydroxy-phenyl)-2-methyl-alanin als gelbliches Pulver, das 1,78 Mol Wasser enthält, $[\alpha]_D^{20} +20,5^\circ$ (c = 1, in Methanol).