

(19) BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

PATENTCHRIFT



(12) Ausschließungspatent

(11) **DD 290 193 A5**

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27. 10. 1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) C 07 D 403/14

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) DD C 07 D / 335 491 7 (22) 11.12.89 (44) 23.05.91

- (71) Akademie der Wissenschaften, Otto-Nuschke-Straße 22/23, O - 1080 Berlin, DE
(72) Henklein, Peter, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Bienert, Michael, Dr. sc. Dipl.-Chem.; Beyermann, Michael, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Heyne, Hans-Ulrich, Dr. rer. nat.; Granitza, Dörthe, Dipl.-Chem., DE
(73) Institut für Wirkstoffforschung der Akademie der Wissenschaften, O - 1136 Berlin; Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Charité der Humboldt Universität zu Berlin, O - 1040 Berlin, DE
(74) Institut für Wirkstoffforschung der Akademie der Wissenschaften, AG Patente, Alfred-Kowalke-Straße 4, O - 1136 Berlin, DE
-

(54) **Verfahren zur Herstellung neuer Uroniumsalze**

(55) Uroniumsalze; Kondensationsmittel; Peptidsynthese; Amide; Ester; β -Lactame; Harnstoffderivate; N-Hydroxyverbindungen; Chemie; Pharmazie

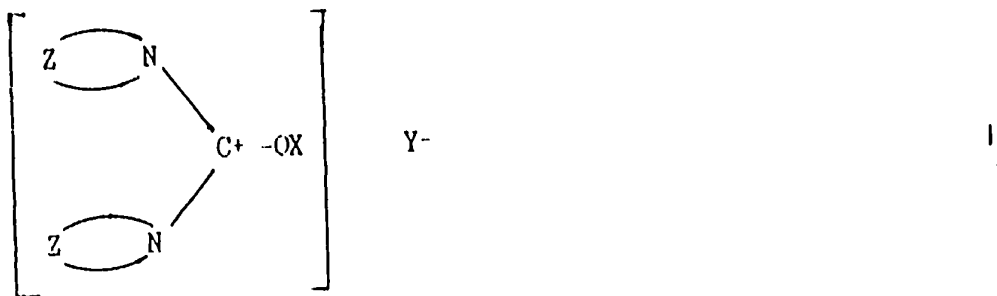
(57) Die Erfindung betrifft neue Uroniumsalze, Verfahren zu ihrer Herstellung und ihre Verwendung. Die erfindungsgemäßen Verbindungen weisen eine hohe Löslichkeit in organischen Lösungsmitteln auf. Uroniumsalze sind geeignete Kondensationsmittel für die Synthese von β -Lactamen, Estern, Amiden und Peptiden. Die neuen Uroniumsalze werden durch Umsetzung von Harnstoffderivaten mit Alkali- oder Ammoniumsalzen von N-Hydroxyverbindungen hergestellt. Anwendungsgebiete der Erfindung sind die chemische und die pharmazeutische Industrie.

ISSN 0433-6461

5 Seiten

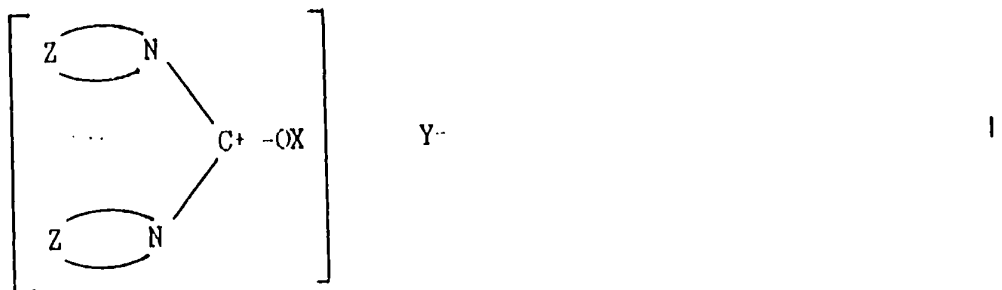
Patentansprüche:

1. Neue Uroniumsalze der Formel I

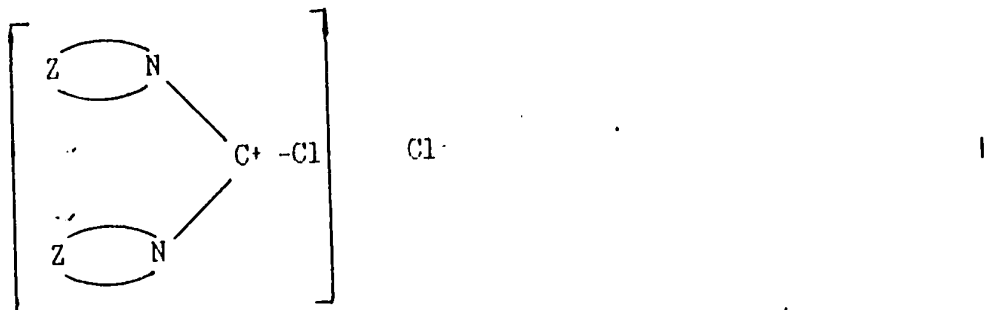


worin X Benzotriazolyl, N-Succinimidyl oder Norborn-5-en-2,3-dicarboximidyl, Y Cl⁻, BF₄⁻ oder PF₆⁻ und Z -(CH₂)_n mit n = 5 - 6 oder -CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂- bedeuten.

2. Verfahren zur Herstellung neuer Uroniumsalze der Formel I



worin X Benzotriazolyl, N-Succinimidyl oder Norborn-5-en-2,3-dicarboximidyl, Y Cl⁻, BF₄⁻ oder PF₆⁻ und Z -(CH₂)_n mit n = 5 - 6 oder -CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂- bedeuten, **gekennzeichnet dadurch**, daß eine Verbindung der Formel II

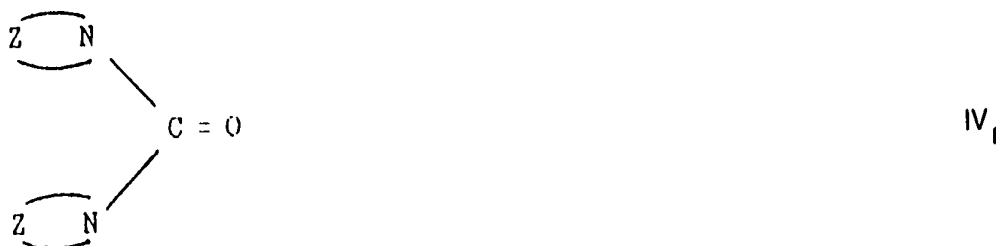


mit einem Alkali- oder Ammoniumsalz der Formel III
MOX

worin M ein Alkali- oder Ammoniumion bedeutet, X, Y, Z und n die oben genannte Bedeutung haben, und gegebenenfalls gleichzeitig oder anschließend mit einem Alkali- oder Ammoniumsalz des Tetrafluoroborats oder Hexafluorophosphats umgesetzt wird.

3. Verfahren nach den Ansprüchen 1 und 2, **gekennzeichnet dadurch**, daß X Benzotriazolyl bedeutet.
4. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 3, **gekennzeichnet dadurch**, daß Y ein Tetrafluoroboration bedeutet.
5. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 4, **gekennzeichnet dadurch**, daß Z -(CH₂)_n- mit n = 5 bedeutet.
6. Verfahren nach Anspruch 1, **gekennzeichnet dadurch**, daß Z -(CH₂)_n- mit n = 6 bedeutet.

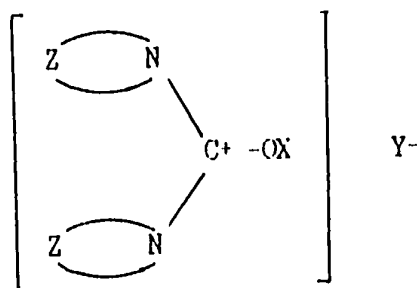
7. Verfahren nach den Ansprüchen 1 bis 6, gekennzeichnet dadurch, daß eine durch die Umsetzung der Verbindung der Formel IV



- in der Z die in Anspruch 1 genannte Bedeutung hat, mit einem Säurechlorid, vorzugsweise Oxalychlorid, hergestellte Verbindung der Formel II eingesetzt wird.
8. Verwendung von Uroniumsalzen der Formel I als Kondensationsmittel.

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft neue Uroniumsalze der allgemeinen Formel I



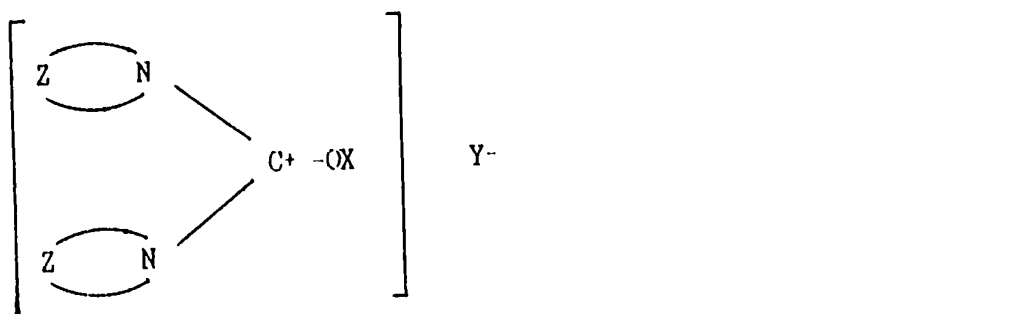
worin X für Benzotriazolyl, N-Succinimidyl oder Norborn-5-en-2,3-dicarboximidyl steht, Y ein Gegenion, vorzugsweise Cl⁻, BF₄⁻ oder PF₆⁻ bedeutet und Z für (-CH₂)_n mit n = 5 - 6 oder -CH₂-CH₂-O-CH₂-CH₂- steht, Verfahren zur ihrer Herstellung, sowie ihre Verwendung.

Uroniumsalze sind wichtige Kondensationsmittel in der Peptidchemie, zur Synthese von β -Lactamen, Amiden und Estern. In den letzten 15 Jahren sind eine Reihe neuer Kondensationsreagenzien, vor allem zur Synthese von Peptiden eingeführt worden. Zu den gegenwärtig gebräuchlichsten Reagenzien zählt das von Castro (B. Castro, et al., Tetrahedron Letters 14, 1219 [1975]) entwickelte Benzotriazol-1-oxy-tris-(dimethylamino)-phosphonium-hexafluorophosphat (BOP) (EP-289353). Das Reagens erwies sich auch als geeignet für die Synthese von Estern (Molka, D. et al., Nouv. J. Chim. 6, [5], 277 [1982]) und zur Herstellung der β -Lactambindung (Kim Sunggak et al., Bull. Korean. Chem. Soc. 9[3], 189 [1989]). Wesentliche Nachteile sind jedoch das für die Herstellung des BOP benötigte cancerogene Hexamethylenphosphorsäuretriamid (HMPA) und das als Nebenprodukt entstehende Phosphorsäureamid. Als Alternative wurden von Knorr 1989 (R. Knorr et al. 20. Europäisches Peptidsymposium Tübingen, R. Knorr Tetrahedron Letters 30[15] 1927 [1989]) 2-(1-H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyl-uronium-hexafluorophosphat bzw. -tetrafluoroborat sowie eine Reihe weiterer Derivate vorgeschlagen. Das von R. Knorr favorisierte 2-(1-H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-tetramethyluronium-tetrafluoroborat (TBTU), das vergleichbar gute Kondensationseigenschaften wie BOP besitzt, hat jedoch den für peptidchemische Arbeiten erheblichen Nachteil der schlechten Löslichkeit in Methylenchlorid.

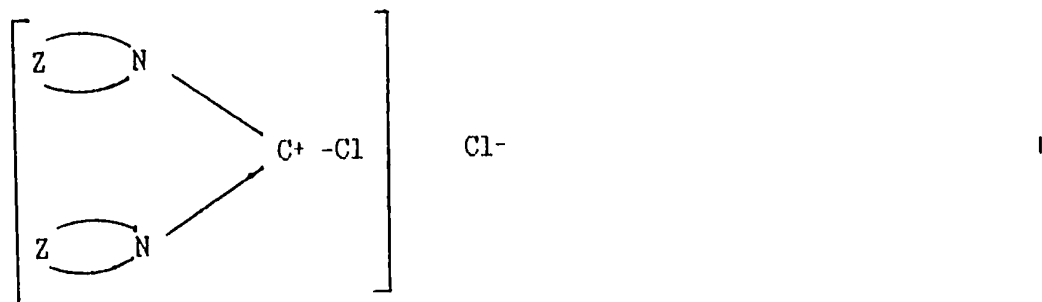
Tetramethyluroniumchlorid, ein seit langem bekanntes Kondensationsreagens, besitzt wegen seiner großen Hygroskopizität nur eingeschränkte Bedeutung (T. Fujisawa et al. Chem. Letters 1982 1891). Den gleichen Nachteil, einschließlich formylierender und chlorierender Wirkungen besitzt das als Aktivierungsreagens zur Synthese von Estern vorgeschlagene N,N-Dimethylchloromethyleniminiumchlorid (P. Stadler, Helv. chim. Acta 61, 1675, [1978]). M. Zaoral stellte mit diesem Reagens Amide (Tetrahedron Letters 1960, 9) und H. Eilingsfeld (Angew. Chem. 72, 836 [1972]) Säurechloride her.

Ziel der Erfindung ist die Herstellung neuer Kondensationsreagenzien, die leicht zugänglich sind und die die Synthese von β -Lactamen, Estern, Amiden und Peptiden mit einer hohen Ausbeute gewährleisten. Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, neue Kondensationsmittel auf der Basis von Uroniumsalzen herzustellen, die eine hohe Hydrolysestabilität und verbesserte Lösungseigenschaften, eine hohe Raum-Zeit-Ausbeute sowie eine geringe Nebenproduktbildung bei der Herstellung von β -Lactamen, Amiden, Estern und Peptiden gewährleisten.

Erfindungsgemäß wird die Aufgabe dadurch gelöst, daß Verbindungen der Formel I,



hergestellt werden, worin X Benzotriazolyl, N-Succinimidyl oder Norborn-5-en-2,3-dicarboxirnidyl, Y ein Chlorid-, Tetrafluorborat- oder Hexafluorophosphation und Z $-(CH_2)_n-$ mit $n = 5 - 6$ oder $-CH_2-CH_2-O-CH_2-CH_2-$ bedeuten. Die Herstellung der Verbindungen der Formel I erfolgt dadurch, daß eine Verbindung der Formel II, worin Z die in Formel I angegebene Bedeutung hat



mit einem Alkali- oder Ammoniumsalz von N-Hydroxyverbindungen der Formel III

MOX III,
 worin M für ein Alkalimetall- oder Ammoniumion steht und X die oben genannte Bedeutung hat, zu einem Uroniumsalz der Formel I umgesetzt wird, worin Y ein Chloridion bedeutet. Der Austausch des Chloridions gegen das Tetrafluorborat- oder Hexafluorophosphation erfolgt in üblicher Weise (vgl. R. Knorr, B. Castro) dadurch, daß entweder die Umsetzung in Gegenwart von MBF_4 oder MPF_6 stattfindet, wobei M ein Alkalimetall- oder Ammoniumion darstellt, oder daß nach der Umsetzung die Verbindung der Formel I, wenn Y für Cl- steht, zur Reaktion gebracht wird. Die Ausgangsverbindungen der Formel II stellen neue Verbindungen dar. Ihre Herstellung erfolgt in einfacher Weise durch Umsetzung von Harnstoffen der Formel IV



mit einem Säurechlorid, vorzugsweise Oxalylchlorid oder Phosgen. Die Uroniumsalze der Formel I zeichnen sich überraschenderweise durch eine wesentlich verbesserte Löslichkeit in DMF und Methylchlorid im Vergleich zu BOP und TBTU aus. Die Löslichkeit beträgt bei den neuen Uroniumsalzen bis zu 1,5 Mol/l.

Ferner sind die neuen Verbindungen aus nicht cancerogenen Stoffen in einfacher Weise zugänglich. Sie gewährleisten bei der Synthese von β -Lactamen, Amidin und Estern sowie bei der Herstellung von Peptiden sowohl nach der klassischen Synthese in Lösung als auch nach der Festphasensynthese eine hohe Raum-Zeit-Ausbeute bei geringer Nebenproduktbildung. Alle anfallenden Nebenprodukte lassen sich durch einfache Waschoptionen entfernen.

Eine besonders gute Löslichkeit und Hydrolysestabilität weisen Verbindungen der Formel I auf, worin Z $-(CH_2)_n-$ und $n = 5$, X Benzotriazol-1-yl und Y ein Tetrafluoroboration bedeuten.

Die Erfindung wird im folgenden anhand von Ausführungsbeispielen erläutert.

Ausführungsbeispiele

Beispiel 1

2-(1-H-Benzotriazol-1-yl)-1,1,3,3-bis(pentamethylen)uronium tetrafluorborat
 19,6g (0,1 Mol) Carbodipiperidid werden in 100ml Methylchlorid gelöst. Zur stark gerührten Lösung werden 8ml (0,095 Mol) Oxalylchlorid langsam addiert. Es wird 2h unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abkühlen wird auf die Hälfte des Volumens eingedampft und mit dem doppelten Volumen Ether versetzt. Das ausfallende halb feste Produkt wird mit Ether mehrfach digeriert,

abgetrennt und in 100 ml Acetonitril aufgenommen. Es werden nacheinander 17,3 g (0,1 Mol) KOBt und 12,6 g (0,1 Mol) KBF₄ addiert und über Nacht bei Raumtemperatur gerührt. Der entstandene Feststoff wird abgetrennt und die organische Phase wird eingeeengt. Der zurückbleibende halb feste Rückstand wird mit Ether/Hexan verrieben und anschließend aus Acetonitril umkristallisiert.

Fp. 138–140°C. Ausbeute 32–35 g (80–87%)

¹³C-NMR δ = 149 C-O 134, 128, 116 C-Aromat 51, 26, 24 C (Piperidin)

HRMS 196,1579 196,1576 C₁₁H₂₀N₂O

119,0441 119,0438 C₈H₅N₃

112,0758 112,0762 C₈H₁₀NO

Beispiel 2

Benzamid

10 mMol Benzoesäure (1,22 g) werden in 5 ml DMF, gemeinsam mit 10 mMol (4 g) des nach Beispiel 1 gewonnenen Uroniumsalzes gelöst. Zur Reaktionslösung gibt man 20 mMol Diisopropylethylamin (DIEA) und versetzt mit 11 mMol 25% Ammoniak. Es wird 15–20 Minuten gerührt und die Lösung in 50 ml 10%iger Natriumhydrogensulfatlösung unter Rühren eingetropft. Das ausfallende Öl wird in Essigester aufgenommen und mit 5%iger Natriumhydrogencarbonat- und 10%iger Natriumchloridlösung aufgeschüttelt. Die organische Phase wird getrocknet, eingeeengt und der Rückstand mit n-Hexan verrieben.

Fp. 126°C Ausbeute: 97%

Beispiel 3

Nicotinsäureamid

analog Beispiel 2 aus Nicotinsäure und Ammoniak

Fp. 132°C. (Beilstein 22,40 Fp. 130–132°C.)

Beispiel 4

Z-Val-Gly-OEt

2 mMol Z-Val-OH und 2 mMol (0,8 g) des unter Beispiel 1 gewonnenen Uroniumsalzes werden in 5 ml Methylenchlorid/DMF gelöst, 4 mMol (688 µl) DIEA addiert und zu einer Lösung von 2 mMol Gly-OEt × HCl und 2 mMol (344 µl) DIEA addiert. Nach 15–20 Minuten ist die Reaktion beendet. Es wird wie üblich aufgearbeitet.

Fp. 164°C. [α]_D²⁰ = –25,1 C = 1 Ethanol

Lit. 164°C. [α]_D²⁰ = –24,9 C = 1 Ethanol

V. Dourtoglou Tetrahedron Letters 15, 1269 (1979)

Beispiel 5

Boc-Ile-Ile-OMe

analog Beispiel 4 aus Boc-Ile-OH und Ile-OMe

Fp. 147–150°C. [α]_D²⁰ = –33,7 C = 1 Ethanol

Fp. 149–150°C. [α]_D²⁰ = –33,9 C = 1 Ethanol (vgl. Lit. Beisp. 4)

Beispiel 6

Neurotensin

Neurotensin wurde an 300 mg Wang-Harz (0,37 meq/g) nach der Fmoc-Technik unter Verwendung des nach Beispiel 1 hergestellten Uroniumsalzes synthetisiert. Die Synthese erfolgte nach dem für BOP bzw. TBTU üblichen Verfahren unter Verwendung von 3 Äquivalenten Aminosäure, 3 Äquivalenten Uroniumsalz und 6 Äquivalenten DIEA als Base. Die Fmoc-Abspaltung erfolgte mit 20% Piperidin in DMF. Die Abspaltung vom Harz wurde mit 95% Trifluoressigsäure unter Verwendung von Ethandithiol durchgeführt. Das so synthetisierte Produkt war mit auf anderem Weg synthetisierten (BOP, TBTU) Neurotensin im HPLC Chromatogramm identisch.