



MINISTERE DES AFFAIRES ECONOMIQUES

NUMERO DE PUBLICATION : 1007183A3

NUMERO DE DEPOT : 09300621

Classif. Internat. : C07C C07D C07K

Date de délivrance le : 18 Avril 1995

Le Ministre des Affaires Economiques,

Vu la loi du 28 Mars 1984 sur les brevets d'invention, notamment l'article 22;

Vu l'arrêté royal du 2 Décembre 1986 relatif à la demande, à la délivrance et au maintien en vigueur des brevets d'invention, notamment l'article 28;

Vu le procès verbal dressé le 18 Juin 1993 à 11H00 à l'Office de la Propriété Industrielle

ARRETE:

ARTICLE 1.- Il est délivré à : SOLVAY (Société Anonyme)
rue du Prince Albert 33, B-1050 BRUXELLES(BELGIQUE)

représenté(e)(s) par : MARCKX Frieda, SOLVAY - Département Prop. Indus., Rue de Ransbeek, 310 - 1120 BRUXELLES.

un brevet d'invention d'une durée de 20 ans, sous réserve du paiement des taxes annuelles, pour : UREINES DERIVEES D'ALPHA, OMEGA-DIAMINOACIDES ET PROCEDE POUR LEUR PREPARATION.

ARTICLE 2.- Ce brevet est délivré sans examen préalable de la brevetabilité de l'invention, sans garantie du mérite de l'invention ou de l'exactitude de la description de celle-ci et aux risques et périls du(des) demandeur(s).

Bruxelles, le 18 Avril 1995
PAR DELEGATION SPECIALE :

G. DE CUYPERE
Secrétaire d'administration

Uréines dérivées d' α,ω -diaminoacides
et procédé pour leur préparation

La présente invention se rapporte à de nouvelles uréines, dérivées d' α,ω -diaminoacides et à un nouveau procédé de préparation de tels composés.

Classiquement, des uréines dérivées de diaminoacides peuvent
5 être préparées par carbamoylation au moyen d'un cyanate ou d'un isocyanate. Cette procédure connue n'apparaît cependant pas entièrement satisfaisante, principalement en raison d'une spécificité insuffisante de ces réactifs pour la fonction amino à carbamoyler et en raison de la racémisation parfois importante
10 qu'un tel traitement peut provoquer.

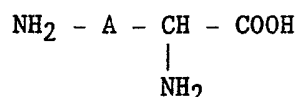
L'invention remédie aux inconvénients des procédés classiques en fournissant un nouveau procédé particulièrement performant, permettant d'obtenir le produit désiré avec un rendement chimique amélioré, en conservant remarquablement la
15 pureté chirale des composés mis en oeuvre.

En conséquence, l'invention concerne un procédé de préparation d'uréines dérivées d'un α,ω -diaminoacide, selon lequel on fait réagir, en milieu basique, un composé contenant un groupement amino libre avec un dérivé du diaminoacide comportant
20 un groupement N^{ω} -aryloxycarbonyle.

Par uréine, on entend désigner tout composé dont la structure moléculaire contient la structure $-NH-CO-NH-$.

Par aminoacide, on entend désigner, aux fins de la présente invention, tout composé comprenant au moins un groupement amino
25 et au moins un groupement carboxyle. Par extension, on entend aussi englober ci-après sous le vocable "aminoacide", tout aminoacide dont certains groupements, à l'exception d'un groupement amino, sont éventuellement liés à des groupements organiques tels que des groupements protecteurs. En particulier, par α,ω -diaminoacide,
30 on entend désigner tout aminoacide comprenant au moins un

groupement amino et au moins un groupement carboxyle liés au même atome de carbone de la molécule et comprenant en outre au moins un autre groupement amino lié à un autre atome de carbone. Il s'agit le plus souvent d'un composé de formule générale



5 dans laquelle A représente un groupement bivalent, constitué d'une chaîne carbonée de 1 à 8 atomes de carbone, laquelle est éventuellement substituée par un ou plusieurs groupements choisis parmi les groupements alkyles en C1-C3 et les groupements fonctionnels comprenant au moins un atome d'oxygène ou de soufre
10 tels qu'un groupement carboxyle, acyle, hydroxyle, alcoxyle ou mercapto, sans que le nombre total d'atomes de carbone dans le groupement A ne soit supérieur à 15. De préférence, A est un groupement polyméthylène comprenant de 2 à 5 atomes de carbone. A titre d'exemples d' α,ω -diaminoacides, on peut citer notamment
15 l'acide 2,3-diaminopropanoïque, l'acide 2,4-diaminobutanoïque, l'ornithine, la lysine, l'homolysine, la 5-hydroxylysine, la 6-méthyllysine et l'acide 2,6-diaminopimélique.

Par dérivé du diaminoacide comportant un groupement N^ω -aryloxycarbonyle, également dénommé par la suite N^ω -aryloxycarbonyl-
20 diaminoacide, on entend désigner tout dérivé de α,ω -diaminoacide dans lequel un groupement aryloxycarbonyle de formule R-O-CO- , R symbolisant un groupement aryle, est lié à l'atome d'azote du groupement ω -amino du diaminoacide.

Dans le procédé selon l'invention, la mise en oeuvre d'un
25 dérivé du diaminoacide comportant un groupement N^ω -aryloxycarbonyle est critique. En effet, il est apparu de manière surprenante que le groupement aryloxycarbonyle lié au groupement ω -amino de l'aminoacide conduit, en présence d'un composé contenant un groupement amino libre, à la formation d'une uréine, par
30 substitution du fragment aryloxy dudit groupement aryloxy-carbonyle par le groupement amino libre dudit composé.

Généralement, le dérivé N^ω -aryloxycarbonyle du diaminoacide mis en oeuvre comporte, comme groupement aryloxycarbonyle, un groupement comprenant de 7 à 15 atomes de carbone. Le plus

souvent, ce groupement aryloxy-carbonyl est un groupement phényloxy-carbonyl ou naphtyloxy-carbonyl, éventuellement substitué par au moins un groupement choisi parmi les groupements alkyles comprenant de 1 à 4 atomes de carbone et le groupement
5 nitro. A titre d'exemples de groupements aryloxy-carbonyls utilisables dans le procédé selon l'invention, on peut citer les groupements phényloxy-carbonyl, tolyloxy-carbonyl, xylyloxy-carbonyl, mésoityloxy-carbonyl, éthylphényloxy-carbonyl, diéthylphényloxy-carbonyl, propylphényloxy-carbonyl, isopropylphényloxy-carbonyl, naphtyloxy-carbonyl et nitrophényloxy-carbonyl. De
10 préférence, le groupement aryloxy-carbonyl est un groupement phényloxy-carbonyl ou p-tolyloxy-carbonyl. De bons résultats ont été obtenus dans le procédé selon l'invention avec le dérivé N^ω-phényloxy-carbonyl du diamino-acide.

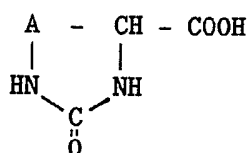
15 Un dérivé N^ω-aryloxy-carbonyl de n'importe quel α,ω-diamino-acide peut être mis en oeuvre dans le procédé selon l'invention.

Le N^ω-aryloxy-carbonyl-diamino-acide est un produit facilement accessible et peu coûteux. Il peut être préparé classiquement en recourant à des techniques bien connues d'acylation sélective,
20 par exemple par l'intermédiaire du complexe cuivrique selon une procédure similaire à celle décrite notamment dans "Methoden Der Organischen Chemie" (HOUBEN-WEYL), 1974, Volume XV/1, p. 472, au sujet de la N^ε-benzyloxy-carbonyl-L-lysine. La fonction α-amino étant complexée par l'ion cuivre, le groupement aryloxy-carbonyl
25 peut être fixé sélectivement à la fonction ω-amino du diamino-acide par réaction avec un chloroformiate d'aryle ou un aryloxy-carbonyloxysuccinimide.

Le composé comprenant un groupement amino libre qui réagit avec le N^ω-aryloxy-carbonyl-diamino-acide dans le procédé selon
30 l'invention est tout composé de formule générale R₁R₂NH dans laquelle R₁ et R₂ représentent indépendamment l'un de l'autre, des atomes d'hydrogène, des radicaux alkyles, cycloalkyles ou aralkyles ou dans laquelle R₁ et R₂ forment ensemble un radical alicyclique. Dans ce composé, les radicaux alkyles, cycloalkyles,
35 aralkyles ou alicycliques peuvent être substitués par un ou plusieurs groupements fonctionnels comprenant au moins un atome

d'oxygène, de soufre ou d'azote, par exemple par un groupement carboxyle, hydroxyle, mercapto, indolyle ou imidazolyle. Des composés utilisables dans le procédé selon l'invention sont notamment l'ammoniac, les amines primaires ou secondaires et les aminoacides tels que définis plus haut. Le procédé selon l'invention est particulièrement intéressant lorsque le composé comprenant un groupement amino libre est un aminoacide.

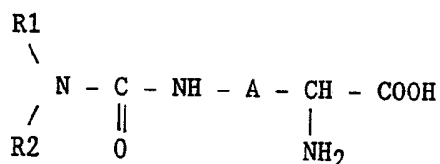
Lorsque le N^{ω} -aryloxy-carbonyl-diaminoacide est un dérivé d'un α, ω -diaminoacide dans lequel la chaîne carbonée du groupement A est constituée de 1 à 3 atomes de carbone, le N^{ω} -aryloxy-carbonyl-diaminoacide joue, dans le procédé selon l'invention, à la fois le rôle de dérivé N^{ω} -aryloxy-carbonyl et, par son groupement α -amino, le rôle de composé contenant un groupement amino libre. Il en résulte, via une réaction intramoléculaire, la formation d'uréines cycliques de formule générale



dans laquelle A représente un groupement bivalent, constitué d'une chaîne carbonée linéaire formée de 1 à 3 atomes de carbone, éventuellement substituée.

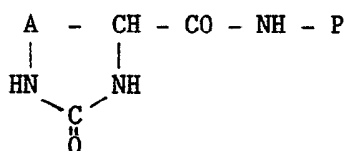
A titre illustratif, dans le procédé de l'invention, l'acide N^{β} -aryloxy-carbonyl-2,3-diaminopropanoïque forme l'acide 2-oxo-imidazolidine-4-carboxylique, l'acide N^{γ} -aryloxy-carbonyl-2,4-diaminobutyrique forme l'acide 2-oxo-hexahydropyrimidine-4-carboxylique et la N^{δ} -aryloxy-carbonyl-ornithine forme l'acide 2-oxo-hexahydro-1,3-diazépine-4-carboxylique.

Lorsque le N^{ω} -aryloxy-carbonyl-diaminoacide est un dérivé d'un α, ω -diaminoacide dans lequel la chaîne carbonée du groupement A est constituée d'au moins 4 atomes de carbone, le N^{ω} -aryloxy-carbonyl-diaminoacide est transformé dans le procédé selon l'invention en uréine non cyclique de formule générale



dans laquelle R1 et R2 ont la même signification que ci-avant et dans laquelle A représente un groupement bivalent, constitué d'une chaîne carbonée linéaire formée d'au moins 4 atomes de carbone, éventuellement substituée. A titre illustratif, dans le
 5 procédé de l'invention, l'homocitrulline est obtenue par réaction entre la N^ε-phényloxycarbonyl-lysine et l'ammoniac. Lorsque le composé comprenant un groupement amino libre est un aminoacide, un N^ω-(aminoacidocarbonyl)-α,ω-diaminoacide est obtenu par le procédé selon l'invention.

10 Un N^ω-aryloxycarbonyl-diaminoacide intégré au sein d'une chaîne peptidique peut sans inconvénient être mis en oeuvre dans le procédé selon l'invention. En particulier, lorsque le N^ω-aryloxycarbonyl-diaminoacide est un dérivé d'un α,ω-diaminoacide dans lequel la chaîne carbonée du groupement A est
 15 constituée de 1 à 3 atomes de carbone et que ce composé constitue le résidu N-terminal d'une chaîne peptidique, le procédé selon l'invention permet d'obtenir facilement des peptides de formule générale



dans laquelle A représente un groupement bivalent, constitué
 20 d'une chaîne carbonée linéaire formée de 1 à 3 atomes de carbone, éventuellement substituée et dans laquelle NH - P représente toute chaîne peptidique liée à l'urée cyclique par une liaison amide.

25 Le procédé selon l'invention est effectué dans un milieu basique.

Le procédé selon l'invention est généralement effectué dans un milieu liquide dans lequel le N^ω-aryloxycarbonyl-diaminoacide et le composé comprenant un groupement amino libre sont au moins en partie solubles et de préférence entièrement solubles. Selon
 30 la nature des réactifs, le milieu peut comprendre de l'eau et/ou un solvant organique. Des solvants organiques qui conviennent dans le procédé selon l'invention sont les alcools inférieurs tels que notamment le méthanol, l'éthanol et l'isopropanol, le

tétrahydrofurane et le diméthoxyéthane. Les milieux constitués d'eau et d'un solvant organique miscible à l'eau sont préférés. De bons résultats ont été obtenus notamment dans un milieu eau-éthanol.

5 La basicité du milieu peut être obtenue par ajout d'un composé basique dans le milieu, par exemple par ajout d'une base inorganique telle que LiOH, NaOH ou KOH ou par ajout d'une base organique inerte dans les conditions de réaction, telle qu'une amine tertiaire. De bons résultats ont par exemple été obtenus en
10 présence de LiOH ou de triéthylamine. Lorsque le composé contenant un groupement amino libre est un aminoacide comportant des fonctions carboxyles libres, le composé basique doit être mis en oeuvre en quantité suffisante pour neutraliser les fonctions carboxyles.

15 Pour l'obtention des uréines cycliques, la réactivité intramoléculaire du N^{ω} -aryloxy-carbonyl-diaminoacide est telle que l'on peut sans problème ajouter un composé contenant un groupement amino libre, tel que l'ammoniac, pour atteindre la basicité souhaitée du milieu, sans que cela n'affecte de manière
20 appréciable le rendement de la réaction en uréine cyclique.

 Pour l'obtention des uréines non cycliques, lorsque le groupement α -amino du N^{ω} -aryloxy-carbonyl-diaminoacide est libre, il est nécessaire, afin d'éviter une réaction de condensation du N^{ω} -aryloxy-carbonyl-diaminoacide, concurrente à la réaction
25 désirée avec le composé contenant un groupement amino libre, de travailler avec un excès du composé comportant un groupement amino libre que l'on désire faire réagir avec le N^{ω} -aryloxy-carbonyl-diaminoacide, par rapport à la quantité stoechiométrique nécessaire. De bons résultats sont obtenus lorsqu'on travaille
30 avec un rapport molaire entre le composé contenant un groupement amino libre et le N^{ω} -aryloxy-carbonyl-diaminoacide au moins égal à 3. De préférence, on travaille avec un rapport au moins égal à 4. En principe, il n'y a pas de limite supérieure à ce rapport. En pratique, il est cependant généralement inutile de travailler
35 avec un rapport molaire entre le composé contenant un groupement amino libre et le N^{ω} -aryloxy-carbonyl-diaminoacide supérieur à

100. Le plus souvent, le rapport molaire ne dépasse pas 10.

Lorsque le composé contenant un groupement amino libre est un aminoacide ou un peptide, le rapport molaire ne dépasse pas, de préférence, 7. Lorsque le composé contenant un groupement amino libre présente un caractère basique suffisant, il peut s'avérer inutile de rajouter un autre composé basique dans le milieu.

Le procédé selon l'invention peut être mis en oeuvre dans une large gamme de concentration des réactifs dans le milieu liquide, en particulier pour l'obtention des uréines cycliques. En général, le N^{ω} -aryloxycarbonyl-diaminoacide est mis en oeuvre à une concentration de 0,05 à 5 mole/l, de préférence de 0,1 à 1 mole/l.

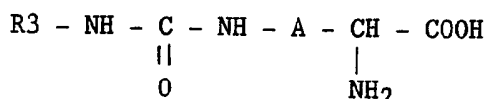
La réaction peut être effectuée de la température ambiante jusqu'à la température d'ébullition du solvant organique. Elle est avantageusement effectuée de 30 à 80 °C. Une température de 40 à 60 °C est tout particulièrement préférée.

Dans ces conditions, le temps de réaction est généralement inférieur à 10 heures. Le plus souvent, la réaction est complète après une durée de 30 minutes à 4 heures.

Le procédé selon l'invention apparaît particulièrement avantageux pour préparer des uréines dérivées d' α,ω -diaminoacides. Le dérivé N^{ω} -aryloxycarbonyle du diaminoacide mis en oeuvre dans le procédé selon l'invention peut être préparé facilement et à peu de frais au départ du diaminoacide. Il peut être aisément isolé sous forme pure. Il est stable et peut être conservé longtemps sans dégradation. Le procédé selon l'invention est particulièrement performant. Il permet d'obtenir les uréines recherchées avec un rendement très élevé. Il est en outre très respectueux de la chiralité des composés mis en oeuvre. De plus, le départ du fragment aryloxy du groupement aryloxycarbonyle ne génère dans le milieu que des sous-produits relativement inoffensifs qui ne perturbent pas la synthèse. Par exemple, lorsqu'il s'agit du groupement phényloxycarbonyle, seuls du phénol est généré. Dès lors, lorsque les composés mis en oeuvre comportent des groupements très labiles, tels que certains groupements protecteurs, les sous-produits générés dans le milieu

ne provoquent aucune dégradation de ces composés. La purification des produits désirés est nettement plus simple que dans les procédés antérieurs connus.

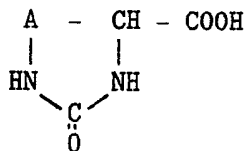
L'invention concerne également des N^ω-(aminoacidocarbonyl)-
 5 α,ω-diaminoacides, uréines dérivées d'un α,ω-diaminoacide, de formule générale



dans laquelle A représente un groupement bivalent, constitué d'une chaîne carbonée linéaire formée de 4 à 8 atomes de carbone, laquelle est éventuellement substituée par un ou plusieurs
 10 groupements choisis parmi les groupements alkyles en C1-C3 et les groupements fonctionnels comprenant au moins un atome d'oxygène ou de soufre tels qu'un groupement carboxyle, acyle, hydroxyle, alcoxyle ou mercapto et dans laquelle R3 - NH représente un
 15 aminoacide ou un peptide. De préférence A est un groupement polyméthylène contenant de 4 ou 5 atomes de carbone. R3 - NH est de préférence un aminoacide et, plus préférentiellement, un aminoacide essentiel.

Ces composés nouveaux constituent des composés de structure proche de celle de dipeptides et sont utilisables notamment en
 20 lieu et place des dipeptides correspondants, notamment comme source d'aminoacides essentiels en alimentation humaine parentérale ou en alimentation animale.

L'invention concerne également les uréines cycliques de formule générale



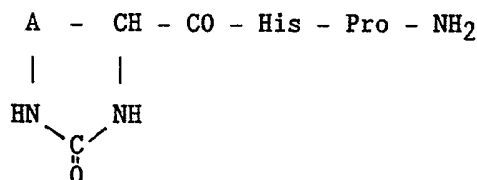
25 dans laquelle A représente un groupement bivalent, constitué d'une chaîne carbonée linéaire formée de 1 à 3 atomes de carbone, laquelle est éventuellement substituée par un ou plusieurs groupements choisis parmi les groupements alkyles en C1-C3 et les groupements fonctionnels comprenant au moins un atome d'oxygène
 30 ou de soufre tels qu'un groupement carboxyle, acyle, hydroxyle,

alcoyle ou mercapto, à l'exclusion de l'acide 2-oxo-imidazolidine-4-carboxylique et de l'acide (LD)-2-oxo-hexahydropyrimidine-4-carboxylique. De préférence, A représente un groupement bivalent, constitué d'une chaîne carbonée constituée de 2 ou 3 atomes de carbone, éventuellement substituée. De manière particulièrement préférée, A représente un groupement triméthylène $-(CH_2)_3-$. Dans ce cas, l'urée formée est l'acide 2-oxo-hexahydro-1,3-diazépine-4-carboxylique, obtenu aisément par le procédé selon l'invention au départ de l'ornithine.

Selon que l'énantiomère (D) ou (L) du diaminoacide est mis en oeuvre dans le procédé selon l'invention, l'énantiomère (D) ou (L) de l'urée cyclique correspondante est obtenu sous forme chiralement pure.

Ces uréines cycliques peuvent être utilisées notamment comme résidu N-terminal de certains peptides biologiquement actifs, tels l'hormone TRH (Thyrotropin Releasing Hormone), en remplacement du groupement pyroglutamyl N-terminal de ce peptide.

L'invention concerne enfin des peptides analogues de la TRH, de formule générale



dans laquelle A est un groupement bivalent, constitué d'une chaîne carbonée linéaire formée de 2 ou 3 atomes de carbone, laquelle est éventuellement substituée par un ou plusieurs groupements choisis parmi les groupements alkyles en C1-C3 et les groupements fonctionnels comprenant au moins un atome d'oxygène ou de soufre tels qu'un groupement carboxyle, acyle, hydroxyle, alcoyle ou mercapto. De préférence, A est un groupement polyméthylène. Le peptide dans lequel A est un groupement triméthylène est préféré. Ces peptides présentent une résistance accrue à la digestion protéolytique, tout en conservant une activité biologique élevée.

Les représentations symboliques des aminoacides et des peptides adoptées dans la description et les exemples suivent les

recommandations IUPAC de nomenclature, généralement adoptées et décrites par exemple dans "Nomenclature and Symbolism for Amino Acids and Peptides, Recommendations 1983", Eur. J. Biochem. (1984), 138, p. 9-37. Sauf stipulation contraire, tous les amino-

5

acides décrits sont les (L)-aminoacides.
Les exemples suivants illustrent l'invention.

Les différents produits et intermédiaires de synthèse rapportés dans les exemples ont été caractérisés par différentes méthodes analytiques, mises en oeuvre dans les conditions

10

- suivantes :
- rotation optique (α) : mesurée à 589 nm à 25 °C
 - Chromatographie en couche mince (CCM) :
 - . Plaques de silicagel MERCK 60F-254
 - . éluants : Rf(1) Acétate d'éthyle:n-butanol:acide acétique:eau
1:1:1:1
 - Rf(2) Acétonitrile:chloroforme:acide acétique:eau
5:2:2:1
 - Rf(3) Acétonitrile:chloroforme:acide acétique:eau
7:4:4:2

15

20

- Chromatographie HPLC :
 - . Colonne C-18 Vydac 5 μ m
 - . Elution : gradient de 98 % A + 2 % B jusqu'à 25 % A + 75 % B en 49 minutes (A = eau 0,1 % en acide trifluoroacétique ; B = acétonitrile 0,1 % en acide trifluoroacétique)
- Résonance magnétique nucléaire (RMN) :

25

- . Débit = 2 ml/min
- . Détection : UV 220 nm.

30

- . Appareil Brüker AMX 500 MHz
- . Shift donnés en ppm
- . Allures des résonances : m=multiplet, s=singulet, d=doublet, t=triplet, q=quadruplet, quint=quintuplet.

Exemple 1 : Synthèse de N^ε-(N^α-tryptophanocarbonyl)-lysine

35

5,1 g (25 mmol) de tryptophane, 1,34 g (5 mmol) de N^ε-phényloxycarbonyl-lysine et 1,05 g (25 mmol) de LiOH.H₂O ont

été pesés dans un ballon de 100 ml, puis 40 ml d'eau ont été introduits dans le ballon. Celui-ci a été immergé dans un bain d'huile maintenu à 75°C pendant 45 minutes, a ensuite été rapidement refroidi à température ambiante sous de l'eau courante, puis traité avec 25 ml d'acide chlorhydrique. Le précipité formé a été filtré, après une nuit au réfrigérateur.

Une analyse HPLC a révélé une conversion complète de la N^ε-phényloxycarbonyl-lysine en 2 produits présentant, dans les conditions d'analyse, un temps de rétention (tR) de 12,23 et 13,95 minutes, avec un rapport 13:1 en surface de pics. Les produits ont été séparés par injection du filtrat tel quel sur une colonne HPLC C-18 préparative, puis lyophilisés. 880 mg de N^ε-(N^α-tryptophanocarbonyl)-lysine et 76 mg de N^ε-(N^ε-(N^α-tryptophanocarbonyl)-N^α-lysinocarbonyl)-lysine ont été obtenus.

Les propriétés physico-chimiques de la N^ε-(N^α-tryptophanocarbonyl)-lysine sont les suivantes :

PF : 133°C

α : + 3,31 (c = 1, 1 % acide acétique)

CCM : Rf(3) = 0,34

RMN (H-1) dans le DMSO-d₆ :

11,00 (1H s) NH indole	7,50 (1H d) H4 indole
7,32 (1H d) H7 indole	7,09 (1H s) H2 indole
7,03 (1H t) H6 indole	6,94 (1H t) H5 indole
6,28 (1H t large) εNH Lys	6,18 (1H d) αNH Trp
4,36 (1H m) Hα Trp	3,30 (1H m) Hα Lys
3,12 (1H dd) HβATrp	2,99 (1H dd) HβBTrp
2,94 (2H m) Hε's Lys	1,70 (1H m) HβA Lys
1,60 (1H m) HβB Lys	1,31 (4H m) Hγ's + Hδ's Lys

Exemple 2 : Synthèse de N^ε-(méthioninocarbonyl)-lysine

La N^ε-(méthioninocarbonyl)-lysine a été préparée au départ de méthionine et de N^ε-phényloxycarbonyl-lysine selon la même recette que celle décrite à l'exemple 1. Elle présente les propriétés physico-chimiques suivantes :

PF : 148°C

α : - 9,5 (c = 1, 1 % acide acétique)

CCM : Rf(3) = 0,27

HPLC : $t_R = 7,14$ min

RMN (H-1) dans le DMSO-d₆ :

	6,43 (1H d large) NH α Met	6,33 (1H t large) NH ϵ Lys
	4,11 (1H m) H α Met	3,35 (1H m) H α Lys
5	2,95 (2H m) H ϵ 's Lys	2,33 (2H t) H γ 's Met
	2,02 (3H s) CH ₃ Met	1,88 (1H m) H β A Met
	1,77 (1H m) H β B Met	1,72 (1H m) H β A Lys
	1,65 (1H m) H β B Lys	1,33 (4H m) H γ 's + H δ 's Lys

Exemple 3 : synthèse de l'acide (D)-2-oxo-hexahydro-1,3-diazépine-4-carboxylique

10 A une suspension de 1,27 g (5 mmol) de (D)-N δ -phényloxy-carbonyl-ornithine dans 15 ml de diméthoxyéthane et 10 ml d'eau ont été ajoutés 7,7 ml ($\pm$ 100 mmol) d'ammoniaque à 25 %. Le degré de conversion a été suivi par CCM. Une fois la (D)-phényloxy-

15 carbonyl-ornithine disparue, le milieu réactionnel a été concentré à sec. Le résidu a été trituré par 20 ml d'acétone à 80 %, filtré et séché. A ce stade, on a déterminé par RMN que le produit brut obtenu était le sel d'ammonium de l'acide (D)-2-oxo-hexahydro-1,3-diazépine-4-carboxylique, contaminé par environ 5 %

20 de citrulline (Rendement : 820 mg ou 92 % en produit brut). L'acide (D)-2-oxo-hexahydro-1,3-diazépine-4-carboxylique a été obtenu, avec une pureté supérieure à 98 %, par passage du produit brut en solution aqueuse à travers une colonne résine échangeuse d'ions sous forme H⁺, puis lyophilisation.

25 PF : 130-150 °C (décomposition)

α : + 14,6 (c = 1, eau)

CCM : Rf(3) : 0,70 ne réagit plus à la ninhydrine

Rf(3) : 0,16 pour la citrulline

Rf(3) : 0,54 pour la N δ -phényloxycarbonyl-ornithine

30 RMN(H) réf DMSO-d₆ à 2,49 :

6,20 (1H,s large) NH1	5,55 (1H,s large) NH3
3,75 (1H,m) H4	2,89 (2H,m) H7
1,90 (1H,m) H5A	1,77 (1H,m) H5B
1,55 (2H,m) H's 6	

RMN(C-13) réf DMSO-d₆ à 39,50 :

173,45 (C _{OOH})	163,65 (C ₂)
54,43 (C ₄)	31,03 (C ₅)
26,81 (C ₆)	

5 Exemple 4 : Synthèse de l'acide (L)-2-oxo-hexahydropyrimidine-4-carboxylique

2 g (8,3 mmol) d'acide (L)-N^Y-phényloxy-carbonyl-diamino-butyrrique ont été dissous dans 10 ml d'eau et 5 ml de méthanol. Après ajout de 3 ml (22 mmol) de triéthylamine, la solution a été
10 chauffée sous léger reflux jusqu'à disparition complète du produit de départ (contrôle par CCM). La solution a été concentrée à sec, puis suspendue dans 50 ml de dichlorométhane. Le produit alors sous la forme (L)-2-oxo-hexahydropyrimidine-4-carboxylate de triéthylamine a été déplacé par addition de 1,8 ml
15 d'acide trifluoroacétique. Le trifluoroacétate de triéthylamine étant bien soluble, l'acide (L)-2-oxo-hexahydropyrimidine-4-carboxylique précipite sélectivement. Il a été récupéré par filtration, lavé par du dichlorométhane, puis séché.

Rendement : 95 %

20 α : + 20,1 (c = 1, eau)

CCM R_f(2) = 0,55

RMN(¹H) réf D₂O à 4,80 :

4,27 (1H, t) H α	3,35 (1H d de t) H γ A
3,22 (1H o) H γ B	2,13 à 2,18 (2H m) H β A+B

25 Exemple 5 : Synthèse de (2-oxo-hexahydro-1,3-diazépine-4-carbonyl)-His-Pro-NH₂

1 g (1,40 mmol) de bis-trifluoroacétate de N ^{δ} (phényloxy-carbonyl)Orn-His-Pro-NH₂ a été dissous dans 10 ml de méthanol contenant 0,75 ml (5,4 mmol) de triéthylamine. La solution a été
30 portée à léger reflux à une température d'environ 65 °C, jusqu'à disparition du produit de départ (contrôle par CCM). La solution a été concentrée à sec et triturée avec 20 ml de dichlorométhane. Après filtration, le produit brut recueilli (0,52 g) a été purifié par chromatographie préparative sur phase inverse C-4.
35 L'échantillon analytique isolé sous forme de sel d'acétate présente les propriétés physico-chimiques suivantes :

$\alpha = -8,1$ (c = 1, 1 % acide acétique)

PF : 105 °C

CCM Rf(1) = 0,42

5 RMN (^1H , D20) : certaines résonances sont dédoublées à cause de l'isomérisie cis/trans au niveau de la liaison His-Pro. Les résultats pour la forme majeure (± 85 %) sont repris ci-après :

	8,56 (1H s) H2 imidazole	7,34 (1H s) H5 imidazole
	5,08 (1H dd) H α His	4,46 (1H dd) H α Pro
	4,07 (1H dd) H α Odc	3,81 (1H m) H δ A Pro
10	3,65 (1H m) H δ B Pro	3,30 (1H dd) H β A His
	3,19 (1H dd) H β B His	3,08 à 3,02 (2H m) H δ A+B Odc
	2,36 (1H m) H β A Pro	2,15 à 1,95 (5H + CH3 acétate)
	1,74 (1H m) H γ A Odc	1,51 (1H m) H γ B Odc

15 Exemple 6 : Synthèse de (2-oxo-hexahydropyrimidine-4-carbonyl)-His-Pro-NH₂

432 mg (3 mmol) d'acide (L)-2-oxo-hexahydropyrimidine-4-carboxylique ont été dissous dans 10 ml de N-méthylpyrrolidone contenant 0,33 ml (3 mmol) de N-méthylmorpholine. A la solution refroidie à -10°C, ont été ajoutés 0,39 ml de chloroformiate d'isobutyle. Après 5 minutes de réaction à -10°C, une solution de 5 ml de N-méthylpyrrolidone contenant 1,25 g (3 mmol) de 2HBr.His-Pro-NH₂ et 0,90 ml de triéthylamine (6,5 mmol) a été ajoutée. Après un temps de mûrissage de 30 minutes à température ambiante, le mélange réactionnel a été ajouté goutte-à-goutte à 50 ml d'éther sulfurique. Le précipité obtenu a été filtré, puis lavé 2 fois avec 20 ml de dichlorométhane et séché, donnant 1,3 g de produit. Il a été purifié par passage sur une colonne de silicagel en utilisant la même phase mobile qu'en CCM.

Données analytiques :

30 $\alpha = -23,8$ (c = 1, acide acétique)

PF = 140 °C

CCM: Rf(1) = 0,33

RMN(^1H) dans le D20. Certaines résonances sont dédoublées à cause de l'isomérisie cis/trans au niveau de la liaison His-Pro. Les résultats pour la forme majeure (± 85 %) sont repris ci-après :

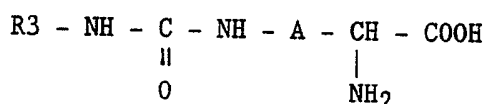
8,16 (1H s) H2 imidazole 7,21 (1H s) H5 imidazole
5,04 (1H dd) H α His 4,48 (1H dd) H α Pro
4,17 (1H s large) H α Opc 3,88 (1H m) H δ A Pro
3,68 (1H m) H δ B Pro 3,296 (2H d large) H β A His + H γ A Opc
5 3,14 (1H dd) H β B His 2,78 (1H m) H γ B Opc
2,37 (1H m) H β A Pro 2,20 à 2,00 H β B + H γ 's Pro/H β 's Opc

1 - Procédé de préparation d'uréines dérivées d'un α, ω -diaminoacide selon lequel on fait réagir, en milieu basique, un composé contenant un groupement amino libre avec un dérivé du diaminoacide comportant un groupement N^{ω} -aryloxycarbonyle.

10 3 - Procédé selon la revendication 2, caractérisé en ce que le groupement aryloxy-carbonyl est un groupement phényloxy-carbonyl ou naphtyloxy-carbonyl, éventuellement substitué par au moins un groupement choisi parmi les groupements alkyles comprenant de 1 à 4 atomes de carbone et le groupement nitro.

5 - Procédé selon une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que le composé comprenant un groupement amino libre est choisi parmi l'ammoniac, les amines primaires et secondaires et les aminoacides.

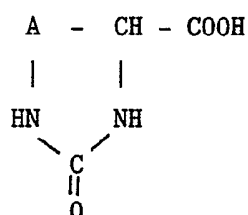
25 7 - N^ω-(aminoacidocarbonyl)-α,ω-diaminoacides de formule
générale



2
dans laquelle A représente un groupement bivalent, constitué d'une chaîne carbonée linéaire formée de 4 à 8 atomes de carbone, laquelle est éventuellement substituée par un ou plusieurs

groupements choisis parmi les groupements alkyles en C1-C3 et les groupements fonctionnels comprenant au moins un atome d'oxygène ou de soufre tels qu'un groupement carboxyle, acyle, hydroxyle, alcoxyle ou mercapto et dans laquelle R3 - NH représente un aminoacide ou un peptide.

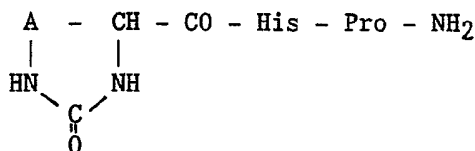
8 - Uréines cycliques de formule générale



dans laquelle A représente un groupement bivalent, constitué d'une chaîne carbonée linéaire formée de 1 à 3 atomes de carbone, laquelle est éventuellement substituée par un ou plusieurs groupements choisis parmi les groupements alkyles en C1-C3 et les groupements fonctionnels comprenant au moins un atome d'oxygène ou de soufre tels qu'un groupement carboxyle, acyle, hydroxyle, alcoxyle ou mercapto, à l'exclusion de l'acide 2-oxo-imidazolidine-4-carboxylique et de l'acide (LD)-2-oxo-hexahydropyrimidine-4-carboxylique.

9 - Uréine selon la revendication 8 dans laquelle A représente un groupement triméthylène $-(\text{CH}_2)_3-$.

10 - Peptides de formule générale



dans laquelle A est un groupement bivalent, constitué d'une chaîne carbonée linéaire formée de 2 ou 3 atomes de carbone, laquelle est éventuellement substituée par un ou plusieurs groupements choisis parmi les groupements alkyles en C1-C3 et les groupements fonctionnels comprenant au moins un atome d'oxygène ou de soufre tels qu'un groupement carboxyle, acyle, hydroxyle, alcoxyle ou mercapto.



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE

établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2
de la loi belge sur les brevets d'invention
du 28 mars 1984

Numero de la demande
nationale

BO 4512
BE 9300621

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int.Cl.5)
A	US-A-2 288 422 (A. ROHM) * revendication 1 *	1	C07C273/18 C07D209/20 C07C323/59 C07D243/04 C07D239/10 C07K5/08
A	--- JOURNAL OF ORGANIC CHEMISTRY, vol. 48, no. 12, 17 Juin 1983 Washington, DC, US, pages 2014 - 2021 J.T. CAPECCHI, ET AL.: 'Critical examination of a method for the analysis of alpha and omega linkages in peptides containing aspartic acid and glutamic acid' * composés 14, 17; page 2020, colonne de gauche, lignes 21 - 42 *	1,8	
A	--- US-A-5 032 577 (A.K.L FUNG et al.) * exemple 194 *	7	
A	--- EP-A-0 207 358 (BAYER) * exemple 3 *	7	
A	--- EP-A-0 074 070 (HOECHST) * page 1 - page 3 *	7	DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.Cl.5)
A	--- INTERNATIONAL JOURNAL OF PEPTIDE AND PROTEIN RESEARCH vol. 33, no. 6, 1989 Copenhagen, DK, pages 403 - 411 H. MAEDA, ET AL.: 'Synthesis and central nervous system actions of thyrotropin- releasing hormone analogues containing a 1-substituted 2-oxoimidazolidine moiety' * composés 2a - 2o *	10	C07C C07D C07K
	--- -/--		
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
3 Février 1994		English, R	
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES			
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire		T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

2

EPO FORM 1503 03.82 (P04C48)



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE

établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2
de la loi belge sur les brevets d'invention
du 28 mars 1984

Numero de la demande
nationale

BO 4512
BE 9300621

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int.Cl.5)
A	JOURNAL OF MEDICINAL CHEMISTRY, vol. 33, no. 8 , Août 1990 Washington, DC, US, pages 2130 - 2137 M. SUZUKI, ET AL.: 'Synthesis and central nervous system actions of thyrotropin- releasing hormone analogues containing a dihydroorotic acid moiety' * composés 3a - 3x, 14a - 14x * -----	8,10	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.Cl.5)
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
3 Février 1994		English, R	
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES			
X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire			
T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			

2

EPO FORM 1503 03.82 (POMC48)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET BELGE NO.**

BO 4512
BE 9300621

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche visé ci-dessus.

Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

03-02-1994

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US-A-2288422		AUCUN	
US-A-5032577	16-07-91	AU-B- 609774	09-05-91
		AU-A- 1158088	27-07-88
		EP-A- 0295294	21-12-88
		JP-T- 1502514	31-08-89
		WO-A- 8805050	14-07-88
		AU-B- 603080	08-11-90
		AU-A- 6759987	23-07-87
		AU-B- 638093	17-06-93
		AU-A- 7028191	18-04-91
		EP-A- 0229667	22-07-87
		US-A- 5214129	25-05-93
EP-A-0207358	07-01-87	DE-A- 3522938	08-01-87
		AU-A- 5920986	08-01-87
		JP-A- 62004259	10-01-87
EP-A-0074070	16-03-83	DE-A- 3134933	31-03-83
		AU-B- 558623	05-02-87
		JP-A- 58055451	01-04-83
		US-A- 4515803	07-05-85
		US-A- 4624962	25-11-86