

(19) **DANMARK**



(12) **FREMLÆGGELSESSKRIFT** (11) **150490 B**



DIREKTORATET FOR
PATENT- OG VAREMÆRKEVÆSENEN

(21) Patentansøgning nr.: 0005/77

(51) Int.Cl.: **C 07 D 498/14**

(22) Indleveringsdag: 03 jan 1977

(41) Alm. tilgængelig: 13 jul 1977

(44) Fremlagt: 09 mar 1987

(86) International ansøgning nr.: -

(30) Prioritet: 12 jan 1976 CH 269/76

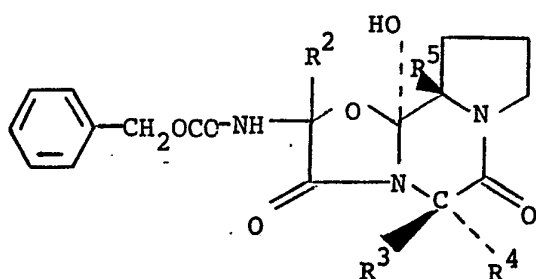
(71) Ansøger: *SANDOZ A.G.; Postfach, CH-4002 Basel, CH.

(72) Opfinder: Paul *Stadler; CH.

(74) Fuldmægtig: Plougmann & Vingtoft Patentbureau

(54) **Fremgangsmåde til fremstilling af 2-amino-octa-
hydro-oxazolo-(3,2-a)pyrrolo(2,1-c)pyrazinderi-
vater**

Den foreliggende opfindelse angår en særlig fremgangsmåde til fremstilling af 2-aminoctahydro-oxazolo[3,2-a]pyrrolo[2,1-c]-pyrazinderivater med den almene formel I



I

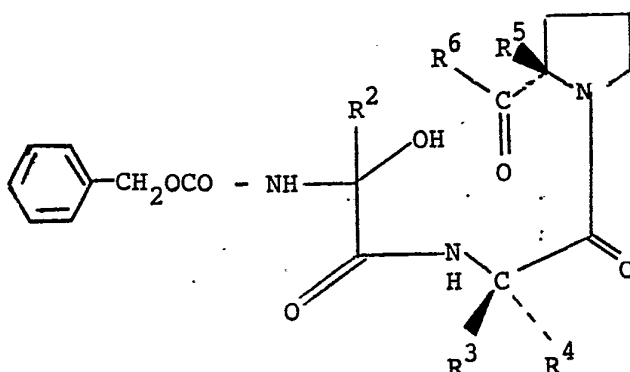
hvor

R^2 betegner alkyl med 1-4 carbonatomer,

R^3 betegner hydrogen eller alkyl med 1-4 carbonatomer,

R^4 betegner hydrogen, alkyl med 1-4 carbonatomer, phenyl, benzyl eller med alkoxy med 1-4 carbonatomer monosubstitueret benzyl, og

R^5 betegner hydrogen eller alkyl med 1-4 carbonatomer, hvilken fremgangsmåde er ejendommelig ved, at forbindelser med den almene formel II



II

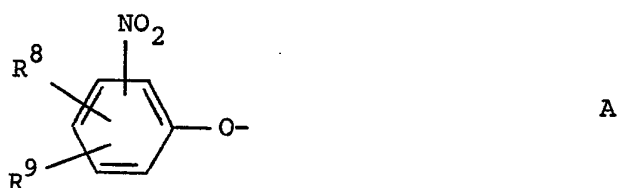
hvor $R^2 - R^5$ har den ovenfor anførte betydning, og R^6 betegner N-succinimidoxy, phenoxy, phenylthio, methylphenoxy, methylphenylthio, nitrophenylthio, pentafluorophenoxy, pentachlorophenoxy, p-chlorphenylthio eller eventuelt med nitro og/eller chlor eller methyl mono- eller disubstitueret nitrophenoxy, under milde solvolyserende betingelser cycliseres intramolekylært under fraspaltning af R^6H , og en vunden aziform eventuelt under milde, sure betingelser på i og for sig kendt måde omdannes til den tilsvarende naturlige form eller omvendt.

Der kan anvendes et ikke-vandigt medium. Reaktionen udføres dog fortrinsvis i et vandigt medium, fortrinsvis ved en pH-værdi mellem 7,3 og 10, især mellem 7,3 og 8. Der kan være svage baser til stede, f.eks. alkalimetalsalte af organiske carboxylsyre, f.eks. kalium- eller natriumacetat, -citrat eller -tartrat. Der kan også være et inert, med vand blandbart opløsningsmiddel til stede, f.eks. acetone, dimethylsulfoxid, dimethoxyethan, dioxan, tetrahydrofuran, dimethylformamid eller dimethylacetamid.

Reaktionstemperaturen ligger hensigtsmæssigt mellem 0 og 30°C, f.eks. ved stuetemperatur.

Hvis der forekommer 1 eller 2 substituenten i nitrophenoxygruppen R^6 , befinder disse sig fortrinsvis i ortho- og/eller para-stillingerne.

Som eksempel på særlig egnede grupper R^6 skal nævnes N-succinimidoxy, pentafluorophenoxy, pentachlorophenoxy, p-chlorphenylthio og grupper med den almene formel A



hvor R^8 betegner hydrogen, chlor eller methyl, og R^9 betegner hydrogen eller nitro.

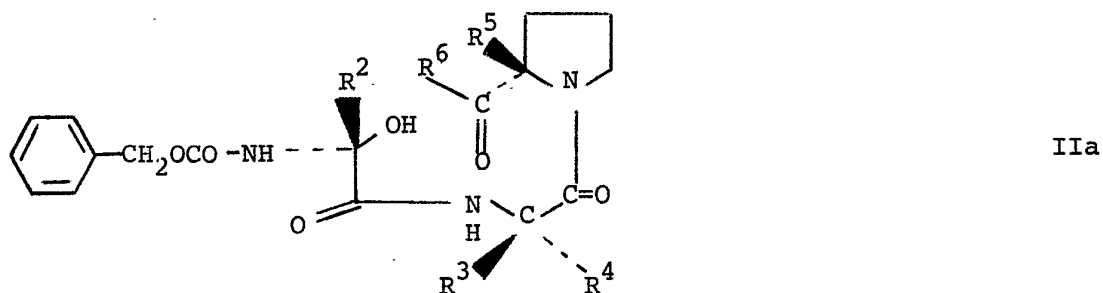
Foretrukne grupper R^6 er o,p-dinitrophenoxy, o-methyl-o',p'-dinitrophenoxy, pentachlorophenoxy og især p-nitrophenoxy.

Egnede grupper R^2 er methyl, ethyl, n-propyl og isopropyl.

R^3 og R^5 kan være ens eller forskellige og er f.eks. hydrogen eller methyl.

C_{1-4} -Alkoxygruppen, der er substitueret i benzylgruppen R^4 , er især methoxy og sidder fortrinsvis i para-stilling.

Forbindelsen med formlen II kan anvendes i sterisk ren form. Således cycliserer en forbindelse med den almene formel IIa



til dannelsen af en forbindelse med den almene formel Ia



Forbindelsen med den almene formel IIb



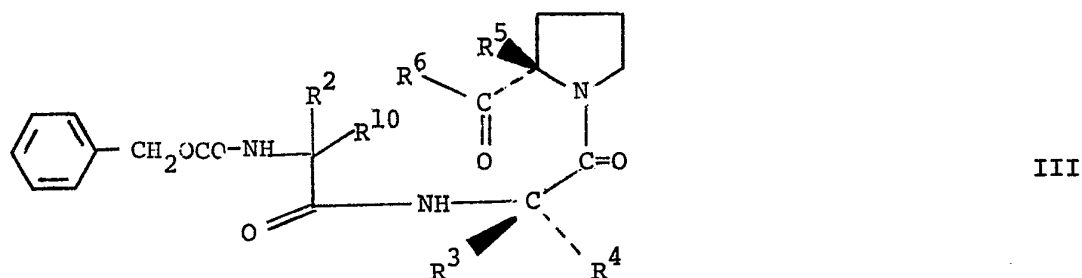
Ib

dvs. i den kendte azi-form.

Aziformen og den naturlige form kan omdannes indbyrdes til en ligevægt under milde sure betingelser på i og for sig kendt måde, f.eks. som beskrevet i eksempel 2.

Forbindelsen med formelen II anvendes hensigtsmæssigt i form af sin diastereoisomerblanding af forbindelser med formlerne IIa og IIb, hvorved der dannes både den naturlige form og azi-formen, som på i og for sig kendt måde kan opspaltes.

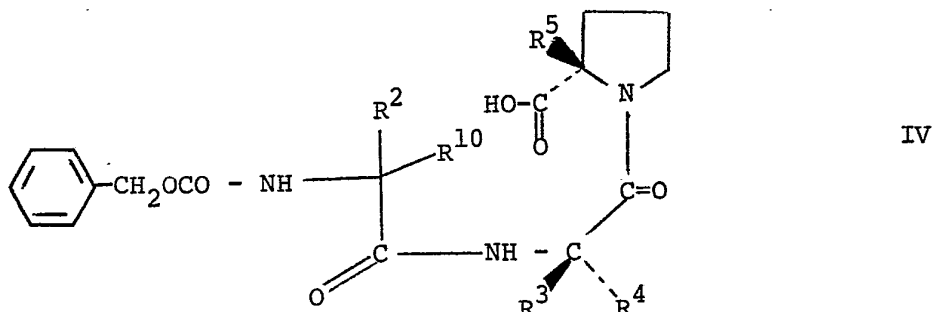
Forbindelserne med formelen II er almindeligvis ustabile og kan anvendes som råprodukt, som dannes ved udskiftning af gruppen R^{10} med hydroxy under oxiderende eller milde hydrolytiske betingelser i forbindelser med den almene formel III



hvor $R^2 - R^6$ har den ovenfor anførte betydning, og R^{10} betegner en under oxiderende eller milde hydrolytiske betingelser fraspaltelig gruppe.

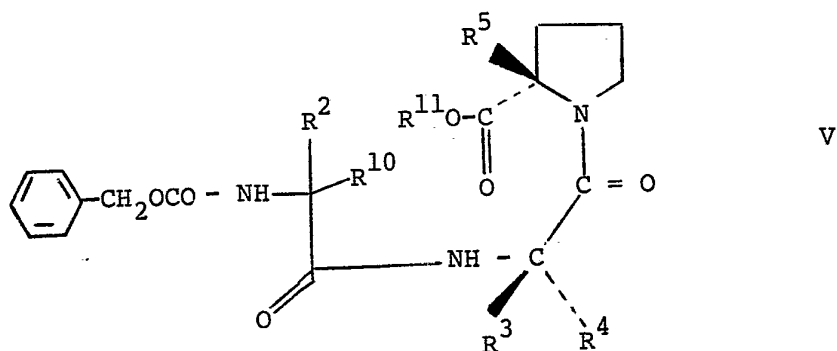
R^{10} betegner fortrinsvis halogen, f.eks. chlor, brom eller iod, isocyanat, en gruppe $-\text{CH}(\text{CH}_3)\text{OH}$ eller fortrinsvis en gruppe $-\text{CH}_2\text{OH}$. Reaktionen kan udføres på en til sådanne oxidationer eller hydrolyser kendt måde. Ved basiske hydrolytiske betingelser kan forbindelserne med formelen III direkte omdannes til forbindelserne med formelen I. Forbindelserne med formelen II fremstilles fortrinsvis ved oxidation. F.eks. kan oxidationen foretages ved hjælp af blytetraacetat [Chem. Berichte 103, 2314 (1970)]. I dette tilfælde finder en racemisering ved det carbonatom, til hvilket R^2 er bundet, sted under reaktionen. Der fås derfor ud fra sterisk rene forbindelser med formelen III en diastereoisomerblanding, som kan anvendes til fremstilling af naturlige former og azi-former af forbindelserne med formelen I.

Forbindelserne med formelen III kan fremstilles ved forestring af forbindelser med den almene formel IV



hvor $-R^5$ og R^{10} har den ovenfor anførte betydning. Forestringen kan foretages på i og for sig kendt måde, f.eks. med en forbindelse R^6H i nærværelse af dicyclohexylcarbodiimid.

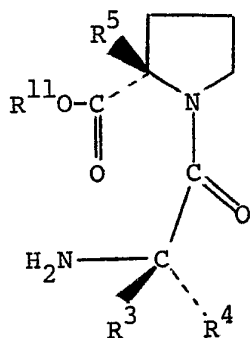
Forbindelserne med formelen IV kan fremstilles ved, at beskyttelsesgruppen R^{11} under sure betingelser spaltes fra forbindelser med den almene formel V



hvor $R^2 - R^5$ og R^{10} har den ovenfor anførte betydning, og R^{11} betegner en under sure betingelser fraspaltelig gruppe.

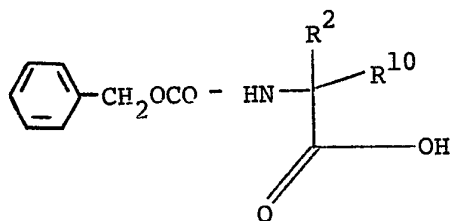
Omsætningen kan udføres på i og for sig kendt måde. R^{11} betegner f.eks. tert.butyl.

Forbindelserne med formlen V kan fremstilles på i og for sig kendt måde ved kondensation af forbindelser med den almene formel VI



VI

hvor R^3 , R^4 , R^5 og R^{11} har den ovenfor anførte betydning, med forbindelser med den almene formel VII



VII

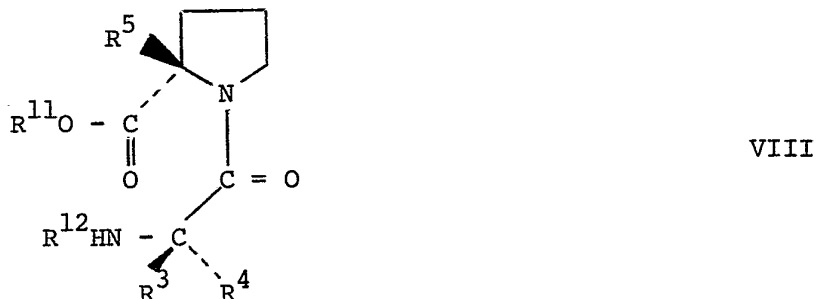
hvor R^2 og R^{10} har den ovenfor anførte betydning.

Reaktionen kan udføres på til kondensation af to aminosyrer kendt måde, f.eks. i nærværelse af dicyclohexylcarbodiimid. Forbindelserne med formlen VII kan, om ønsket, foreligge i aktiveret form, f.eks. efter omsætning med N-hydroxysuccinimid.

Såfremt forbindelserne med formlen VII foreligger i racemisk form, fås forbindelserne med formlen V i form af en diastereoisomerblending, som på i og for sig kendt måde kan opspaltes. Da der ved fremstillingen af forbindelserne med formlen II ud fra forbindelserne med formlen III alligevel finder en racemisering sted, udføres der hensigtsmæssigt ingen opspaltning på dette trin.

Forbindelserne med formlen VII kan fremstilles på den i eksemplerne beskrevne måde eller på i og for sig kendt måde.

Forbindelserne med formel VI kan fremstilles ved, at gruppen R^{12} spaltes hydrogenolytisk fra forbindelser med den almene formel VIII



hvor R^3 , R^4 , R^5 og R^{11} har den ovenfor anførte betydning, og R^{12} betegner en under hydrogenolytiske betingelser fraspaltelig gruppe, f.eks. benzyloxycarbonyl.

Forbindelserne med formel VIII kan fremstilles ved, at forbindelser med den almene formel IX



hvor R^5 og R^{11} har den ovenfor anførte betydning, kondenseres med forbindelser med den almene formel X



hvor R^3 , R^4 og R^{12} har den ovenfor anførte betydning.

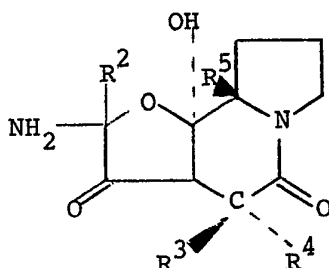
Forbindelserne med formel X kan være naturlige, sterisk rene aminosyrer. I dette tilfælde foreligger de vundne forbindelser med formel VIII i sterisk ren form.

Forbindelserne med formel IX kan fremstilles som beskrevet i eksemplerne Ia) og Ib).

Såfremt fremstillingen af udgangsforbindelserne ikke er beskrevet her, kan disse fremstilles og renses på i og for sig kendt måde.

Forbindelserne med formlen I er almindeligt kendte som mellemprodukter til fremstillingen af ergotalkaloider, f.eks. dihydroergotamin og dihydroergonin.

Forbindelserne med formlerne Ia eller Ib kan omdannes til de naturlige former eller azi-formerne af forbindelser med den almene formel



hvor $R^2 - R^5$ har den ovenfor anførte betydning, i form af syreadditionssalte deraf, f.eks. hydrochloridet, på i og for sig kendt måde, f.eks. ved hydrogenering i methanolisk mineralsyreopløsning ved hjælp af palladiumkatalysator. De kan ved kondensation med lysergsyre, 9,10-dihydrolysergsyre eller med reaktive funktionelle derivater deraf omdannes til de tilsvarende ergotalkaloider.

I dansk patentansøgning nr. 3528/74 er der beskrevet en fremgangsmåde til fremstilling af cyano-, carboxamido- og alkoxycarbonylcycloler ved intramolekylær cyclisering af tilsvarende åbenkædede tripeptider. De således via mange trin vundne forbindelser er mellemprodukter til fremstilling af ergotalkaloider. Før omsætningen med de relevante lysergsyrederivater skal de ovenfor anførte mellemprodukter imidlertid omdannes til de tilsvarende aminocycloler, hvilket kun er muligt via flere trin. Således fås f.eks. benzyloxycarbonylaminocycloler ud fra alkoxycarbonylderivater via følgende 5 trin:

1. hydrolyse af cyclolcarboxylsyreesteren
2. omsætning med PCl_5 til cyclolcarboxylsyrechloridet
3. omsætning med NaN_3 til cyclolcarboxylsyreazidet
4. opvarmning til dannelse af cyclolisocyanatet

5. omsætning med benzylalkohol til dannelse af benzyloxycarbonylaminocyclolen.

Disse reaktioner er også angivet i beskrivelsen til tysk patent nr. 1.194.868.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen adskiller sig derfra ved at være en intramolekylær cyclisering af benzyloxycarbonylaminoderivater, som man i ét trin ved fraspaltning af aminobeskyttelsesgruppen kan omdanne til de tilsvarende aminoforbindelser. Det er overraskende, at de beskyttede aminoforbindelser lader sig cyclisere ligesom tripeptiderne i dansk patentansøgning nr. 3528/74. Således er det kendt, at α -hydroxy- α -aminosyrer er ustabile, hvorfor man måtte formode, at det åbenkædede tripeptid spaltes. De to intramolekylære cycliseringer kan ikke sammenlignes, da der er tale om to principielt forskellige systemer med overordentlig forskellig stabilitet hos udgangsmaterialer og mellemprodukter.

Fremgangsmåden ifølge opfindelsen belyses nærmere i nedenstående eksempler, i hvilke temperaturangivelserne er ukorrigerede. Det normalt anvendte højvakuum er 0,01 mm Hg.

De enkelte optiske isomere af forbindelser med formlerne III, IV og V betegnes som tripeptider eller tripeptidestere I og II.

Eksempel 1.

Azi-form (2S,5S,10aS,10bS) og naturlig form (2R,5S,10aS,10bS) af 2-benzyloxycarbonylamino-2-methyl-5-benzyl-10b-hydroxy-3,6-dioxo-octahydro-8H-oxazolo[3,2-a]pyrrolo[2,1-c]pyrazin.

[Forbindelser med formlen I, hvor R^2 = methyl, R^3 = hydrogen, R^4 = benzyl og R^5 = hydrogen].

6,1 g rå N-(N-benzyloxycarbonyl-DL- α -hydroxy-alanyl)-L-phenyl-alanyl-L-prolin-p-nitrophenylester (fremstilling, se trin h1, h2 eller h3 nedenfor) opløses i 300 ml acetone og sættes til 300 ml 10% 's kaliumtartratopløsning (pH-værdi 7,9). Reaktionsblandingen omrøres i 18 timer ved stuetemperatur, hvorefter den hældes i en skilleteragt, indstilles på pH-værdi 5,0 med 10% 's vinsyreopløsning og ekstraheres tre gange med methylenchlorid. Den heraf delvis krystalliserede rå, i overskriften nævnte forbindelse suspenderes varm med ethylacetat. Blandingen lades afkøle og krystallisere i løbet af 2 timer, hvorefter der filtreres og eftervaskes med ethylacetat. Efter tørring i højvakuum ved 90°C fås den tyndtlagschromatografisk rene azi-form af den i overskriften nævnte forbindelse (smeltepunkt 206 - 208°C; sønderdeling), $[\alpha]_D^{20} = -28^\circ$ (c = 0,5 i methanol). Moderluden fortyndes med 0,5 ml methylenchlorid og udrystes grundigt tre gange med hver gang 400 ml 0,5N sodaopløsning, og sodaekstrakterne efterekstraheres yderligere to gange med methylenchlorid. Methylenchloridfaserne tørres, inddampes og chromatograferes på silicagel. Det med methylenchlorid/4 - 6% 's acetonitril eluerede forløb kasseres. Derefter elueres med methylenchlorid/10 - 14% 's acetonitril den i overskriften nævnte forbindelse i den naturlige form. Den naturlige form renses ved chromatografi på aluminiumoxid (aktivitetstrin II-III), idet der elueres med methylenchlorid/acetone i forholdet 1:1. De første fraktioner krystalliseres af en blanding af fugtigt ethylacetat og en ringe mængde diisopropylether. Der fås den tyndtlagschromatografisk rene, i overskriften nævnte forbindelse (naturlig form) i form af prizmer med smeltepunkt 170 - 172°C, $[\alpha]_D^{20} = +9,8$ (c = 1,6 i ethanol).

Der kan endvidere fås azi-form af den i overskriften nævnte forbindelse ved

i) at indstille de ovennævnte sodaekstrakter på pH-værdi 4 - 5 med vinsyre og ekstrahere to gange med methylenchlorid. Ekstrakterne tørres, inddampes og chromatograferes på en 10 gange så stor mængde silicagel 0,06 - 0,2. Med methylenchlorid/6% 's acetonitril elueres først nitrophenol og ikke-definerede biprodukter. Med methylenchlorid/20% 's acetonitril elueres derefter azi-formen af den i overskriften nævnte forbindelse, som omkrystalliseres af ethylacetat; og

ii) at eluere med methylenchlorid/14 - 20% 's acetonitril ved den ovennævnte chromatografi, vaske fraktionerne med 0,5N sodaopløsning og krystallisere af ethylacetat, hvorved der fås azi-formen. Smeltepunkt $206 - 208^{\circ}\text{C}$ (sønderdeling); $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -28^{\circ}$ ($c = 0,5$ i methanol).

Udgangsforbindelsen kan fremstilles på følgende måde:

a) N-Benzylloxycarbonyl-L-prolin-tert.butylester.

Til en opløsning af 200 ml absolut dimethylformamid i 500 ml absolut acetonitril dryppes under omrøring i løbet af 15 minutter ved -20°C 126,9 g (1 mol) oxalylchlorid. Derefter omrøres opløsningen i yderligere 15 minutter ved -20°C , og der tilsættes 249 g (1 mol) N-benzylloxycarbonyl-L-prolin. Efter yderligere 15 minutters omrøring dryppes der til den resulterende klare, gule opløsning en blanding af 250 ml absolut tert.butanol og 200 ml absolut pyridin på en sådan måde, at temperaturen i blandingen ikke overstiger -15°C . Efter ophør af kølingen lades reaktionsblandingen, som efterhånden bliver rød, færdigreagere i 3 timer ved stuetemperatur. Til oparbejdning fordeles reaktionsblandingen mellem 1200 ml 2N sodaopløsning og methylenchlorid, og den i overskriften nævnte forbindelse fås fra methylenchloridfasen i form af en olie ($n_{\text{D}}^{23} = 1,5015$), som langsomt udkrystalliserer.

b) L-Prolin-tert.butylester [forbindelse med formlen IX].

267 g af det som beskrevet i trin a) vundne råprodukt hydrogeneres i 1,5 liter ethanol med 40 g 5% 's palladium/aktivkul-katalysator ved atmosfæretryk og stuetemperatur, hvorved der fås den i overskriften nævnte forbindelse i form af en farveløs olie. Kogepunkt $_{0,1 \text{ mm Hg}} 43 - 46^{\circ}\text{C}$, $n_{\text{D}}^{20} = 1,4435$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -41,7^{\circ}$ ($c = 2$ i ethanol).

c) N-Benzylloxycarbonyl-L-phenylalanyl-L-prolin-tert.butylester [forbindelse med formlen VIII].

Til en opløsning af 157 g N-benzylloxycarbonyl-L-phenylalanin i 500 ml methylenchlorid og 300 ml absolut diethylether sættes i løbet af 5 minutter ved $15 - 18^{\circ}\text{C}$ 85,5 g L-prolin-tert.butylester i 100 ml diethylether og derefter i løbet af 15 minutter 114 g N,N-dicyclo-

hexylcarbodiimid i 150 ml diethylether på en sådan måde, at reaktionstemperaturen ikke overstiger 18°C . Blandingen omrøres i 1 time ved stuetemperatur og filtreres, og remanensen vaskes med ether. Filtratet vaskes med 2N saltsyre, vand, kaliumhydrogencarbonat og vand i den anførte rækkefølge, og de vandige faser efterekstraheres to gange med diethylether. De organiske faser tørres med natriumsulfat og inddampes. Den som remanens vundne olie opløses i methylenchlorid og filtreres klar. Filtratet inddampes til tørhed og tørres i højvakuum, hvorved der fås den i overskriften nævnte forbindelse i form af en gullig olie.

d) L-Phenylalanyl-L-prolin-tert.butylester [forbindelse med formlen VI].

223 g N-benzyloxycarbonyl-L-phenylalanyl-L-prolin-tert.butylester hydrogeneres analogt med den i trin b) beskrevne måde, idet der som opløsningsmiddel anvendes 2100 ml absolut tetrahydrofuran i stedet for ethanol. Der fås den i overskriften nævnte forbindelse i form af en farveløs olie.

e) N-(N-Benzyloxycarbonyl-D- og -L- α -methyl-seryl)-L-phenylalanyl-L-prolin-tert.butylester [tripeptidester I og II] [forbindelser med formlen V].

7,2 g N-benzyloxycarbonyl-DL- α -methylserin omsættes med 9,5 g L-phenylalanyl-L-prolin-tert.butylester i nærværelse af 6,8 g N,N-dicyclohexylcarbodiimid og oparbejdes som beskrevet i trin c). Den vundne olie chromatograferes på silicagel under anvendelse af methylenchlorid/1% methanol som elueringsmiddel. Først elueres tripeptidesteren I. Denne forbindelse fås i amorf form, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -28,2^{\circ}$ (c = 2 i methylenchlorid). Ved videre eluering med methylenchlorid med stigende methanolindhold (1 - 4 volumen/volumenprocent) fås tripeptidesteren II, der udkrystalliseres af ethylacetat/hexan i forholdet 1:3, smeltepunkt $120 - 121^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -48,4^{\circ}$ (c = 2 i methylenchlorid).

f) N-(N-Benzoyloxycarbonyl-D- og -L- α -methyl-seryl)-L-phenylalanyl-L-prolin-diastereoisomere [tripeptid I og II] [forbindelser med formelen IV].

f1) Tripeptid I.

2,2 g amorf tripeptidester I fra trin e) opløses i 3 ml trifluoreddikesyre og lades henstå i 3/4 time ved stuetemperatur. En del af trifluoreddikesyren frasuges ved stuetemperatur under højvakuum, den tilbageværende harpiks opløses i methylenchlorid, og opløsningen indstilles på alkalisk reaktion med kaliumhydrogencarbonatopløsning. Der ekstraheres tre gange med en blanding af methylenchlorid og noget ethanol, de organiske faser vaskes to gange med fortyndet kaliumhydrogencarbonatopløsning, og de vandige faser indstilles på sur reaktion ved tilsætning af ca. 16% 's saltsyre og ekstraheres derefter tre gange med methylenchlorid. De organiske faser eftervaskes en gang med vand, tørres med natriumsulfat og inddampes. Ved krystallisation af det således vundne hvide skum af en blanding af methylenchlorid/noget methanol/ethylacetat fås det rene tripeptid I i form af hvide krystaller med smeltepunkt $134 - 136^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -30,0^{\circ}$ (c = 2 i ethanol).

f2) Tripeptid II.

Analogt med trin f1) fås under anvendelse af tripeptid II som udgangsprodukt ligeledes et hvidt skum, der efter to ganges krystallisation af ethylacetat/diisopropylether i forholdet 1:1 giver det rene tripeptid II (hvide krystaller, smeltepunkt $115 - 118^{\circ}\text{C}$, $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -38^{\circ}$ (c = 1,5 i ethanol)).

g) N-(N-Benzoyloxycarbonyl-D- og -L- α -methylseryl)-L-phenylalanyl-L-prolin-p-nitrophenylester [tripeptid-p-nitrophenylester I og II] [forbindelser med formelen III].

g1) Tripeptid-p-nitrophenylester I.

49,7 g tripeptidsyre I og 34,8 g p-nitrophenol suspenderes i 200 ml methylenchlorid. Efter ca. 10 minutters omrøring foreligger en

opløsning. Der tildryppes derefter en opløsning af 24,7 g N,N-dicyclohexylcarbodiimid i 200 ml absolut methylenchlorid og 50 ml absolut ether. Den gule suspension omrøres i 2 timer ved 20°C. Derefter tilsættes 5 ml 40%'s eddikesyre, der filtreres efter 10 minutter, og remanensen eftervaskes med methylenchlorid. Det gule filtrat udrystes tre gange med 20%'s kaliumhydrogencarbonatopløsning. De vandige faser ekstraheres yderligere to gange med methylenchlorid, og de samlede organiske faser tørres over natriumsulfat og inddampes.

Der fås en gul harpiks, som chromatograferes på en 10 gange så stor mængde silicagel 0,2 - 0,5. Til dette formål opløses stoffet i methylenchlorid/diethylether i forholdet 1:1, og denne opløsning hældes på søjlen. Der elueres først med diethylether/2%'s acetonitril, og det således vundne forløb kasseres. Tripeptid-p-nitrophenylester I elueres derefter med diethylether/6%'s acetonitril med en renhed på 60 - 90% og med diethylether/8 - 10%'s acetonitril med 95 - 98%'s renhed.

g2) Tripeptid-p-nitrophenylester II.

Ved forestring af tripeptid II analogt med trin g1) fås en gul harpiks, der chromatograferes på en 15 gange så stor mængde silicagel (0,063). Til dette formål opløses stoffet i methylenchlorid/diethylether i forholdet 1:1, og denne opløsning hældes på søjlen. Der elueres først et forløb med diethylether til diethylether/3%'s acetonitril, hvorefter der med diethylether/3 - 8%'s acetonitril elueres ca. 95% samt ca. 98% rent tripeptid-p-nitrophenylester II i form af et gulligt skum. Ved omkrystallisation af acetone-hexan fås tripeptid-p-nitrophenylester II i form af farveløse nåle med smeltepunkt 100 - 101,5°C, $[\alpha]_D^{20} = -70,5^\circ$ (c = 1 i methylenchlorid).

h) N-(N-Benzoyloxycarbonyl-DL- α -hydroxyalanyl)-L-phenylalanyl-L-prolin-p-nitrophenylester [forbindelse med formlen II].

h1) Af tripeptid-p-nitrophenylester I.

I et tørret apparatur hældes 75 ml absolut benzen og 7,5 g molyklarsi 4A. Efter 1 times forløb strøs 5,32 g højvakuum-tørret bly-

tetraacetat ind, og opløsningen omrøres i yderligere 1/2 time. Der tilsættes en opløsning af 6,18 g tripeptid-p-nitrophenylester I [se trin g1)] i 50 ml absolut benzen, og reaktionsopløsningen opvarmes straks til kogetemperatur og videreomrøres i 10 minutter under tilbagesvaling. Den hvide suspension afkøles med et isbad til 15°C og filtreres, og filtratet eftervaskes med benzen, hældes i en skilletragt med methylenchlorid og vaskes to gange med isvand. Der ekstraheres yderligere to gange med methylenchlorid, den organiske opløsning tørres og filtreres over aktivkul, og opløsningsmidlet afdampes ved en badtemperatur på ca. 35°C, hvorved der fås den i overskriften nævnte forbindelse i form af et farveløst skum.

h2) Af tripeptid-p-nitrophenylester II.

På analog måde fås den i overskriften nævnte forbindelse ud fra tripeptid-p-nitrophenylester II [se trin g2)].

h3) Af blandingen af tripeptid-p-nitrophenylester I og II.

Trinene e), f) og g) kan, om ønsket, udføres uden opspaltning af tripeptidester I og II i trin e), tripeptid I og II i trin f) og tripeptid-p-nitrophenylester I og II i trin g), hvorved der fås den i overskriften nævnte forbindelse i trin h).

Det i trin e) som udgangsmateriale anvendte N-benzyloxycarbonyl-DL- α -methylserin [forbindelse med formlen VII] kan fremstilles på følgende måde:

23,9 g DL- α -methylserin hældes i 160 ml absolut pyridin. Til denne hvide suspension dryppes i løbet af 20 minutter ved 20 - 25°C 68 g benzyloxycarbonylchlorid. Der efteromrøres i ca. 6 timer ved stuetemperatur, hvorefter der yderligere tildryppes 34 g benzyloxycarbonylchlorid, og blandingen omrøres natten over ved stuetemperatur. Reaktionsblandingen hældes derpå forsigtigt ud på ca. 400 ml 2N sodaopløsning og ekstraheres to gange med ether. Den organiske fase eftervaskes en gang med 0,5N natriumcarbonatopløsning. De samlede vandige faser indstilles derefter på pH-værdi 1,0 med en blanding af koncentreret saltsyre og is i forholdet 1:1, og opløs-

ningen ekstraheres tre gange med ethylacetat. De samlede organiske faser eftervaskes en gang med en mættet natriumchloridopløsning. Efter tørring og inddampning fås som remanens N-benzyloxycarbonyl-DL- α -methylserin i form af en farveløs harpiks, der krystalliseres af ethylacetat/diisopropylether i forholdet 1:4, prismer, smeltepunkt 115 - 116°C.

Analogt med eksempel 1 og under anvendelse af relevante udgangsforbindelser i trinene g) og h) kan der fås den i overskriften nævnte forbindelse, idet der anvendes tilsvarende forbindelser med formlerne IIa og IIb, hvor R⁶ betegner

- a) phenylthio
- b) pentafluorphenoxy
- c) pentachlorphenoxy
- d) p-chlorphenylthio
- e) o-nitrophenoxy
- f) o,p-dinitrophenoxy eller
- g) o-methyl-o',p-dinitrophenoxy.

Eksempel 2.

Naturlig form (2R,5S,10aS,10bS) af 2-benzyloxycarbonylamino-2-methyl-5-benzyl-10b-hydroxy-3,6-dioxo-octahydro-8H-oxazolo[3,2-a]-pyrrolo[2,1-c]pyrazin ud fra den tilsvarende azi-form.

2,2 g azi-2-benzyloxycarbonylamino-2-methyl-5-benzyl-10b-hydroxy-3,6-dioxo-octahydro-8H-oxazolo[3,2-a]pyrrolo[2,1-c]pyrazin (se eksempel 1) suspenderes i 13 ml iseddike, 90 ml dioxan og 100 ml vand. Suspensionen opvarmes til kogetemperatur, indtil der dannes en klar, farveløs opløsning, og den holdes derefter i yderligere 5 timer ved tilbagesvalingstemperatur. Opløsningen afkøles til stuetemperatur, fortyndes med noget vand og ekstraheres tre gange med methylenchlorid. De samlede organiske faser tørres og inddampes. Der udkrystalliserer rent udgangsmateriale (azi-form). Moderluden, et gulligt skum, chromatograferes på en 30 gange så stor mængde aluminiumoxid. Med methylenchlorid elueres først et forløb. Derefter elue-

res med methylenchlorid til methylenchlorid/0,4%^s methanol ca. 95%^s ren, i overskriften nævnt forbindelse og derefter yderligere ca. 50%^s ren, i overskriften nævnt forbindelse.

Den 95%^s rene, i overskriften nævnte forbindelse krystalliseres derefter af methylenchlorid/ethylacetat, og moderluden efterkrystalliseres en gang af ethylacetat/diisopropylether i forholdet 1:2.

Den således vundne, i overskriften nævnte forbindelse smelter ved 171 - 172,5°C, $[\alpha]_D^{20} = +7,1^\circ$ (c = 1,8 i ethanol).

Eksempel 3.

Analogt med eksempel 1 fås de nedenfor anførte naturlige former og azi-former af aminocycloler med formelen I, hvis smeltepunkter ved tilsætning af samme materiale ikke viser nogen nedgang. Azi-formerne kan omdannes til de tilsvarende naturlige former analogt med eksempel 2.

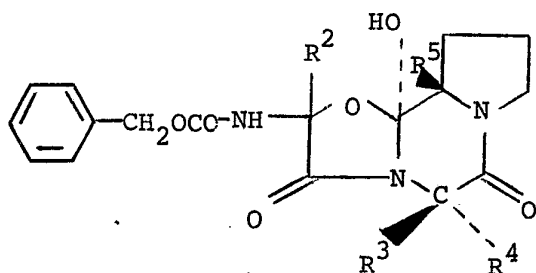
Eksempel	R ²	R ³	R ⁴	R ⁵	Smeltepunkt, °C
a	isopropyl	H	benzyl	H	207 - 209
b	isopropyl	H	isopropyl	H	212 - 214
c	methyl	H	isopropyl	H	190 - 191
d	methyl	H	isobutyl	H	212 - 213
e	methyl	H	benzyl	CH ₃	185 - 187
f	ethyl	H	benzyl	H	197 - 199
g	ethyl	H	isopropyl	H	216 - 218
h	ethyl	H	isobutyl	H	212 - 214
i	isopropyl	H	sek.butyl	H	130 - 132
j	isopropyl	H	isobutyl	H	216 - 217
k	ethyl	CH ₃	methyl	H	190 - 192
l	methyl	H	sek.butyl	H	188 - 189
m	ethyl	H	sek.butyl	H	180,5 - 181,5

Det i eksempel 3a) som udgangsmateriale anvendte DL- α -isopropylserin kan fremstilles på følgende måde:

Til 96 g L-valin og 96 g natriumcarbonat i 3 liter vand sættes 22,5 g kobbersulfat-pentahydrat og 500 ml 35% 's formaldehydopløsning. Den resulterende blanding opvarmes til kogning under nitrogenatmosfære i 1 1/2 time, hvorved der dannes en farveløs opløsning med pH-værdi 9. 11,5 g kobbersulfat-pentahydrat tilsættes, og blandingen opvarmes til kogning i 1 time, hvorved der dannes en opløsning med pH-værdi 7,3. Efter afkøling filtreres opløsningen, indstilles på pH-værdi 4 med eddikesyre og hældes på en hydrogenion-ionbyttersøjle, f.eks. "Amberlite" [®] IR 120 (H^+ -form). Søjlen vaskes til neutral reaktion med vand og elueres derefter med 10% 's ammoniakopløsning. De fraktioner, som viser ninhydrinreaktion, sammenhældes, inddampes til et rumfang på 50 ml og fortyndes med absolut ethanol, hvorved der efter omkrystallisation af vand/ethanol fås DL- α -isopropylserin med smeltepunkt 302 - 303°C (sønderdeling).

PATENTKRAV

1. Fremgangsmåde til fremstilling af 2-aminoctahydro-oxazolo-[3,2-a]pyrrolo[2,1-c]pyrazinderivater med den almene formel I



I

hvor

R^2 betegner alkyl med 1-4 carbonatomer,

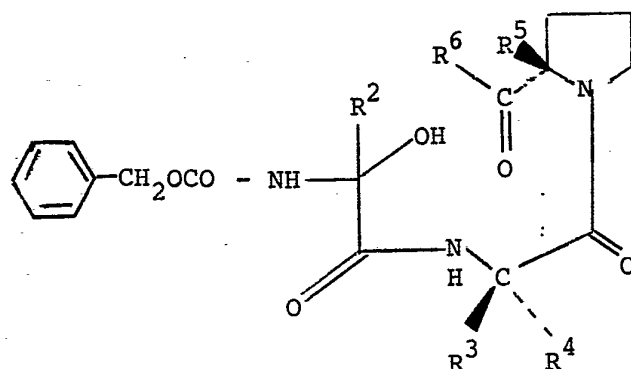
R^3 betegner hydrogen eller alkyl med 1-4 carbonatomer,

R^4 betegner hydrogen, alkyl med 1-4 carbonatomer, phenyl, benzyl eller med alkoxy med 1-4 carbonatomer monosubstitueret benzyl, og

R^5 betegner hydrogen eller alkyl med 1-4 carbonatomer,

kendet ved, at forbindelser med den almene formel

II



II

hvor $R^2 - R^5$ har den ovenfor anførte betydning, og R^6 betegner N-succinimidoxy, phenoxy, phenylthio, methylphenoxy, methylphenylthio, nitrophenylthio, pentafluorphenoxy, pentachlorphenoxy, p-chlorphenylthio eller eventuelt med nitro og/eller chlor eller methyl mono- eller disubstitueret nitrophenoxy, under milde solvolyserende betingelser cycliseres intramolekylært under fraspaltning af R^6H , og en vunden aziform eventuelt under milde, sure betingelser på i og for sig kendt måde omdannes til den tilsvarende naturlige form eller omvendt.

2. Fremgangsmåde ifølge krav 1,

kendetegnet ved, at cycliseringen udføres i vandigt miljø.

3. Fremgangsmåde ifølge krav 2,

kendetegnet ved, at cycliseringen udføres i vandige organiske opløsningsmidler.

4. Fremgangsmåde ifølge krav 2,

kendetegnet ved, at cycliseringen foretages ved en pH-værdi på 7,3-10.

5. Fremgangsmåde ifølge krav 1,

kendetegnet ved, at cycliseringen foretages ved mellem 0 og 30°C.

6. Fremgangsmåde ifølge krav 1 til fremstilling af 2-benzyloxycarbonylamino-2-methyl-5-benzyl-10b-hydroxy-3,6-dioxo-octahydro-8H-oxazolo[3,2-a]pyrrolo[2,1-c]pyrazin,
k e n d e t e g n e t ved, at N-(N-benzyloxycarbonyl-DL- α -hydroxyalanyl)-L-phenylalanyl-L-prolin-p-nitrophenylester cycliseres intramolekylært.

Fremdragne publikationer:

DK ansøgning nr. 3528/74 (patent nr. 140017)
DE patent nr. 1194868.