



(12) Wirtschaftspatent

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1 Patentgesetz

(19) DD (11) 218 886 A1

4(51) C 07 C 99/00
C 07 C 103/52
C 07 C 125/063

AMT FÜR ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) WP C 07 C / 254 198 6

(22) 25.08.83

(44) 20.02.85

(71) Akademie der Wissenschaften der DDR, Patentabt. 1199 Berlin, Rudower Chaussee 5, DD
(72) Henklein, Peter, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Forner, Klaus, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Dölling, Rudolf, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem.; Graul, Karl-Heinz, Dipl.-Chem.; Halatsch, Wolf-Rainer, Dr. rer. nat. Dipl.-Chem., DD

(54) Verfahren zur Herstellung von N-Urethan-geschützten Aminosäuren

(57) Die Erfindung betrifft ein neues Verfahren zur Herstellung urethangeschützter Aminosäuren bzw. Peptiden durch Umsetzung unsymmetrischer Carbonate I mit Aminosäuren bzw. Peptiden. Die Carbonate I, in denen R¹ für tert.-Butyl, Alamantyl-(1), 2-Biphenylpropyl, 9-Methylfluorenyl, Methylsulfonylethyl, Benzyl oder andere in der Peptidchemie übliche Reste steht, werden aus N-(Chlorcarbonyloxy)-5-norbornen-2,3-dicarboximid – erhalten durch Reaktion von N-Hydroxy-5-norbornen-2,3-dicarboximid mit Phosgen – und Alkoholen gewonnen. Formel I

Verfahren zur Herstellung urethangeschützter Aminosäuren

Anwendungsgebiet der Erfindung

Die Erfindung betrifft ein neues Verfahren zur Einführung der Urethan-Gruppe in Aminosäuren bzw. Peptiden unter Verwendung unsymmetrischer Carbonate.

Anwendungsgebiet der Erfindung ist die pharmazeutische Industrie, speziell die Synthese von Peptiden.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen

Es ist eine Vielzahl symmetrischer Carbonate bekannt, die zur Einführung von Urethan-Schutzgruppen in Aminosäuren verwendet werden. Die tert.-Butyloxycarbonyl-(Boc)-Gruppe stellt neben der Benzyloxycarbonyl-(Z)-Gruppe die in der Peptidsynthese am häufigsten benutzte Schutzgruppe dar. Um die in der hohen Toxizität und Explosionsneigung bestehenden Nachteile des bislang meistverwendeten Boc-Einführungsreagenz tert.-Butyloxycarbonylazids (Schwyzer, R.; Sieber, P. u. H. Kappler, *Helv. Chim. Acta*, **42**, 2622 (1962)) zu vermeiden, wurden eine Vielzahl neuer Einführungsreagenzien entwickelt, wie tert.-Butyl-4,6-dimethylpyrimidyl-2-thiol-carbonat (Nagasawa, T.; Kuriowa, K.; Narita, K. u. Y. Isowa, *Bull. Chem. Soc. (Jap.)* **46**, u. A. C. Mc Gregor, *J. Amer. Chem. Soc.* **79**, 6180 (1957), tert.-Butyloxycarbonyloximino-2-phenylacetonitril (Itch. M.; Hagiwara, D. u. T. Kamiya, *Bull. Chem. Soc. (Jap.)* **50**, 718 (1977); *Tetrahedron Lett.* **1975**, 4393), N-(tert.-Butyloxycarbonyloxy)-phthalimid (Gross, H. u. I. Bilk, *Liebigs Ann. Chem.* **725**, 212 (1969), N-(tert.-Butyloxy-carbonyloxy)-succinimid (Franket, M. Ladkany, D.; Gilon,

C. u. Y. Wolman, Tetrahedron Lett. 1966, 4765, Gross, H. u. L. Bilk, Liebigs Ann. Chem. 725, 212 (1969), N-(tert.-Butyloxycarbonyl)-1H-Butyl-phenylcarbonat (Ragnarsson, U.; Karlsson, S. M. u. B. E. Sandberg, Acta Chem. Scand. 26, 2550 (1972); Org. Synth. 53, 25 (1973), tert.-Butyl-S-chinolyllcarbonat (Rzesztotarska, B. u. S. Wiejak, Liebigs Ann. Chem. 716, 216 (1968); Rzesztotarska, B.; Wiejak, S. u. K. Pawelozak, Org. Prep. Proc. Int. 5, 71 (1973), tert.-Butyl-2,4,5-trichlorphenylcarbonat (Broadbent, W.; Morley, I. S. u. B. E. Stone; J. Chem. Soc. (C), 1967, 2632), und Di-tert.-butyl-dicarbonat (Tarbell, D. S.; Yamamoto, Y. u. B. M. Pope; Proc. Nat. Acad. Sci. USA 69, 730 (1972); Org. Synth. 57, 45 (1977); Moroder, L.; Hallet, A.; Wunsch, E.; Keller, O. u. G. Wunsch, E.; Keller, O. u. G. Wersin, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. 357, 1651 (1976).

Neben diesen häufig angewandten Schutzgruppen werden für spezielle Syntheseprobleme weitere wichtige Schutzgruppen benötigt. Hier haben sich in den letzten Jahren vor allem Schutzgruppen bewährt, die unter mildereren Bedingungen abspaltbar sind. Das sind z.B. die 9-Fluorenylmethyloxycarbonyl-Gruppe (Carpino L., J. Am. Chem. Soc. 92, 5748 (1970) die Methylsulfonylethoxycarbonyl-Gruppe (G. Tesser et. al., Intern. J. Peptide Prot. Res. 7, (1975) 295) oder 1-Adamantyllocarbonyl-Schutzgruppe (E. Wunsch, L. Wackerle u. L. Moroder, Hoppe-Seylers Z. Physiol. Chem. 357, 1647 (1976)). Alle diese letzten Schutzgruppen werden gewöhnlich über substituierte Phenole oder N-Hydroxysuccinimidester eingeführt (M. Bodanszky, Y. S. Klausner u. M.A. Ondetti in: Peptide synthesis, 2 nd. ed., J. Wiley N. Y. 1976 p. 32; H. Groß u. L. Bilk, Ann. Chem. 725, 212 (1969); A. Paquet, Can. J. Chem. 57, 2775, (1979) und Can. J. Chem. 60, (8) 976 (1982).

Die genannten Einführungsreagenzien zeichnen sich z.T. dadurch aus, daß bemerkenswert hohe Ausbeuten an Urethan-geschützten Aminosäuren erreicht werden. Ihr Nachteil besteht jedoch vor allem darin, daß bei der Mehrzahl sowohl die Syn-

these der Ausgangsstoffe wie auch die Herstellung des Einführungsgreagens mit hohem präparativen bzw. technischem Aufwand verbunden und ihre Lagerstabilität eingeschränkt ist. Oft ist auch die Aminolyse-Geschwindigkeit begrenzt.

Ziel der Erfindung

Es ist das Ziel der Erfindung, ein neues vorteilhaftes Verfahren zur Herstellung von urethangeschützten Aminosäuren in die Peptidsynthese einzuführen. Es soll ein Reagenz gefunden werden, dessen Herstellung sich durch einen geringen technischen Aufwand und gute Zugänglichkeit der Ausgangsprodukte auszeichnet und das eine hohe Reaktionsfähigkeit und Hydrolysestabilität besitzt.

Darlegung des Wesens der Erfindung

Der Erfindung liegt die Aufgabe zugrunde, ein Herstellungsverfahren für urethangeschützte Aminosäuren zu entwickeln, das von haltbaren und leicht zugänglichen Verbindungen ausgeht. Die Aufgabe wurde dadurch gelöst, daß man unsymmetrische Carbonate I, die durch Reaktion von N-(Chlorcarbonyloxy)-5-norbornen-2,3-dicarboximid (Cl-CO-ONB) II mit entsprechenden Alkoholen gewonnen werden, mit Aminosäuren bzw. Peptiden, die eine ungeschützte Aminogruppe enthalten, umsetzt. Das Cl-CO-ONB II seinerseits wird aus N-Hydroxy-5-norbornen-2,3-dicarboximid HONB III bzw. seinem Natriumsalz IV und Phosgen gewonnen. R¹ steht für tert.-Butyl, Adamantyl-(1), 2-Biphenylpropyl, 9-Methylfluorenyl, Methylsulfonylethyl, Benzyl oder andere in der Peptidchemie übliche Reste (Formelschema), R₂ für Aminosäure- bzw. Peptidreste.

Die Titelverbindungen werden nach einem in der Literatur nicht beschriebenen Verfahren, das die Nachteile der bisherigen Methoden ausschließt (pH-Stat, Haltbarkeit der Ausgangsverbindungen, Stabilität, Zugänglichkeit) hergestellt. Die Erfindung soll anhand von Ausführungsbeispielen näher erläutert werden.

Einführung der Schutzgruppen

Die jeweilige Aminosäure wird in einem Gemisch aus Wasser/Aceton, Wasser/Dioxan oder Wasser/t-Butanol gelöst (evt. suspendiert) und mit der zwei bis vierfachen molaren Menge an Triethylamin versetzt. Im Anschluß daran wird das Reagens in einem Überschuß von 10 % zugegeben. Man rührt bei Raumtemperatur mehrere Stunden (abhängig von der Aminosäure, bei Einführung der Bpoc-Schutzgruppe beträgt die Reaktionstemperatur 45 °C). Der organische Lösungsmittelanteil wird im Vakuum entfernt und der verbleibende Rückstand mit 10%iger KHSO_4 angesäuert.

Man verteilt zwischen Methylenchlorid und KHSO_4 -Lösung und trennt die organische Phase ab. Die organische Phase wird zur Entfernung des restlichen HONB gründlich mit Wasser gewaschen und über MgSO_4 getrocknet. Es wird eingeeengt und mit n-Hexan verrieben.

1. Boc-ONB

Derivat	Fp. (°C)	Ausbeute (%)
Boc-Ala-OH	82	87
Boc-Gly-OH	85-87	85
Boc-Leu-OH	79-83	91
Boc-Pro-OH	132-33	88
Boc-Trp-OH	136-38	86
Boc-β-Ala-OH	79-81	84
Boc-Phe-OH	82-84	91

5

06

2. FMOC-ONB

Derivat	Fp. (°C)	Ausbeute (%)
FMOC-Ala-OH	144	95
FMOC-Gly-OH	172-74	87
FMOC-Leu-OH	153-55	91
FMOC-Phe-OH	180-82	95
FMOC-Val-OH	142-44	85
FMOC-Ser-OH	86-88	87

3. Adoc-ONB

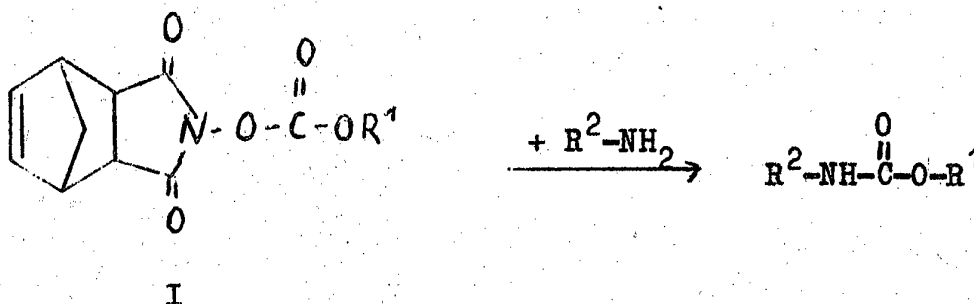
AS	Fp. (°C)	Ausbeute (%)
Phe	60-63	82
Ala	140-41	84
Gly	141-42	87

4. BpOC-ONB

AS	Fp. (°C)	Ausbeute (%)
Pro	122-124	81
Phe	85-87	85

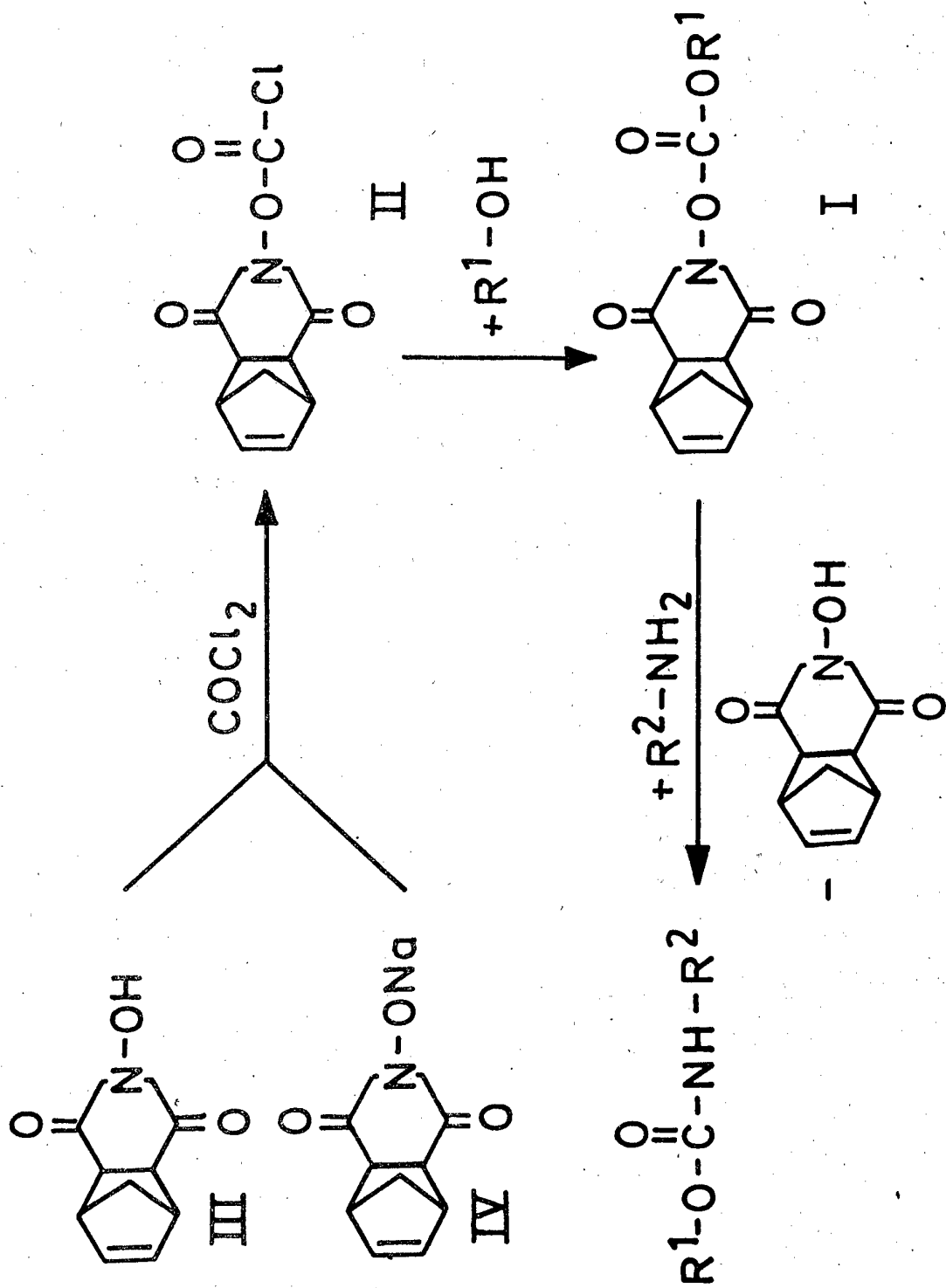
Erfindungsanspruch

1. Verfahren zur Herstellung urethangeschützter Aminosäuren, dadurch gekennzeichnet, daß unsymmetrische Carbonate I, in denen R^1 für tert.-Butyl, Adamantyl-(1), 2-Biphenylpropyl, 9-Methylfluorenyl, Methylsulfonylethyl, Benzyl oder andere in der Peptidchemie übliche Reste und R^2 für Aminosäure- bzw. Peptidreste steht, mit Aminosäuren bzw. Peptiden umgesetzt werden.



2. Verfahren nach Punkt 1, dadurch gekennzeichnet, daß unsymmetrische Carbonate I Verwendung finden, die durch Umsetzung von Alkoholen mit N-(Chlorcarbonyloxy)-5-norbornen-2,3-dicarboximid, das seinerseits durch Reaktion von N-Hydroxy-5-norbornen-2,3-dicarboximid bzw. seinem Natriumsalz mit Phosgen erhalten wird, gewonnen werden.

Hierzu 2 Seiten Formeln



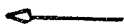
Formelschema

BOC-ONB

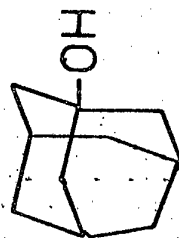
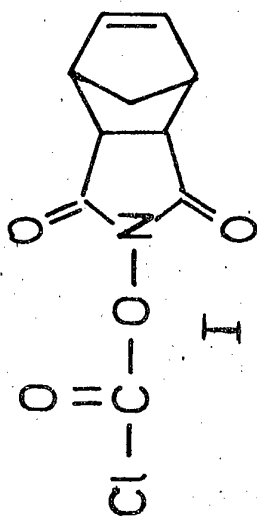
Z-ONB

MSC-ONB

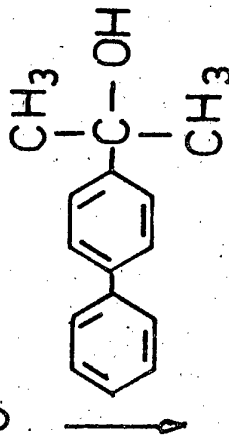
$(\text{CH}_3)_3\text{COH}$



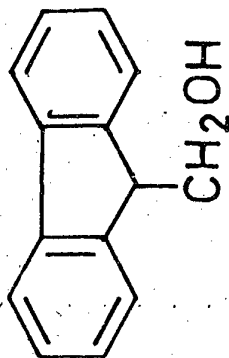
$\text{CH}_3\text{SO}_2\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OH}$



AdOC-ONB



BpOC-ONB



FMOC-ONB