

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公表特許公報(A)

(11) 特許出願公表番号

特表2012-504154

(P2012-504154A)

(43) 公表日 平成24年2月16日(2012.2.16)

(51) Int.Cl.	F I	テーマコード (参考)
C07K 1/02 (2006.01)	C07K 1/02	4C056
C07K 1/06 (2006.01)	C07K 1/06	4H045
C07D 263/06 (2006.01)	C07D 263/06	
C07K 5/06 (2006.01)	C07K 5/06	

審査請求 有 予備審査請求 未請求 (全 15 頁)

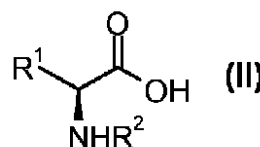
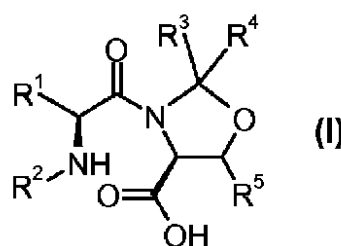
(21) 出願番号	特願2011-529526 (P2011-529526)	(71) 出願人	591003013 エフ. ホフマン-ラ ロシュ アーゲー F. HOFFMANN-LA ROCH E AKTIENGESELLSCHAFT
(86) (22) 出願日	平成21年9月29日 (2009. 9. 29)	(74) 代理人	100078662 弁理士 津国 肇
(85) 翻訳文提出日	平成23年3月30日 (2011. 3. 30)	(74) 代理人	100116919 弁理士 齋藤 房幸
(86) 国際出願番号	PCT/EP2009/062568	(72) 発明者	ヒルトブランド、シュテファン スイス国、ツューラー 4460 ゲルテ ルキンデン、レーレンヴェーク 7
(87) 国際公開番号	W02010/040660		
(87) 国際公開日	平成22年4月15日 (2010. 4. 15)		
(31) 優先権主張番号	08165968.2		
(32) 優先日	平成20年10月7日 (2008. 10. 7)		
(33) 優先権主張国	欧州特許庁 (EP)		

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 シュードプロリンジペプチド

(57) 【要約】

式 [式中、 R^1 は、 α -アミノ酸の側鎖であり、 R^2 は、 α -アミノ保護基であり、 R^3 及び R^4 は、独立して水素又は C_{1-4} -アルキルより選択されるが、但し、 R^3 及び R^4 の両方ともが水素ではなく、 R^5 は、水素又はメチルである] で示されるシュードプロリンジペプチドを、式 [式中、 R^1 及び R^2 は、上記と同義である] で示されるアミノ酸誘導体から出発して製造する方法が開示される。シュードプロリンジペプチドは、Ser、Thr 及び Cys に対する可逆的保護基として使用することができることから、ペプチド化学における多用途の手段である。

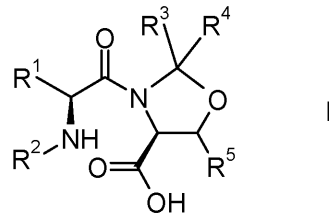


【特許請求の範囲】

【請求項 1】

式

【化 1 1】

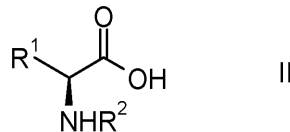


10

[式中、 R^1 は、 α -アミノ酸の側鎖であり、 R^2 は、アミノ保護基であり、 R^3 及び R^4 は、独立して水素（但し、 R^3 及び R^4 の両方ともが水素ではない）又は C_{1-4} -アルキルより選択され、 R^5 は、水素又はメチルである] で示される化合物の製造方法であって、

a) 式

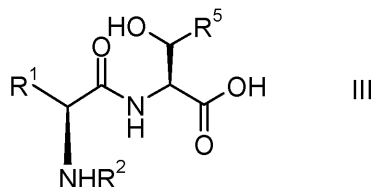
【化 1 2】



20

[式中、 R^1 及び R^2 は、上記と同義である] で示されるアミノ酸誘導体をセリン又はトレオニンと共に式

【化 1 3】

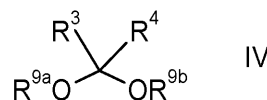


30

で示されるジペプチドに変換すること（それに関して活性化剤として水溶性カルボジイミドを使用する）、及び

b) 式

【化 1 4】



40

[式中、 R^3 及び R^4 は、独立して水素又は C_{1-4} -アルキルより選択されるが、但し、 R^3 及び R^4 の両方ともが水素ではなく、 R^{9a} 及び R^{9b} は、独立して C_{1-4} -アルキルである] で示される化合物と共に式 III で示されるジペプチドの閉環を酸触媒の存在下で実施すること

を含む方法。

【請求項 2】

R^1 が、バリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、アスパラギン、グルタミン、グルタミン酸、ヒスチジン、リシン、アルギニン、アスパラギン酸、

50

アラニン、セリン、トレオニン、チロシン、トリプトファン、システイン、グリシン、アミノイソ酪酸及びプロリンより選択される側鎖であることを特徴とする、請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

R² が、Fmoc、Z、Moz、Troc、Teoc 及び Voc より選択されることを特徴とする、請求項 1 又は 2 記載の方法。

【請求項 4】

水溶性カルボジイミドが、EDC 又はその塩であることを特徴とする、請求項 1 ~ 3 記載の方法。

【請求項 5】

EDC 又はその塩が、HOSu と一緒に用いられることを特徴とする、請求項 4 記載の方法。

【請求項 6】

セリン又はトレオニン：式 I I で示されるアミノ酸誘導体の比が、1.5 ~ 4.0 : 1 の範囲より選択されることを特徴とする、請求項 1 ~ 5 記載の方法。

【請求項 7】

工程 a) における変換が、無機塩基の存在下で行われることを特徴とする、請求項 1 ~ 6 記載の方法。

【請求項 8】

無機塩基が、アルカリ炭酸塩又はアルカリ水酸化物及びその混合物より選択されることを特徴とする、請求項 7 記載の方法。

【請求項 9】

工程 a) における変換が、7.5 ~ 9.5 の範囲の pH で行われることを特徴とする、請求項 1 ~ 8 記載の方法。

【請求項 10】

工程 a) における変換が、-10 ~ 25 の範囲の温度で行われることを特徴とする、請求項 1 ~ 9 記載の方法。

【請求項 11】

反応混合物が、工程 a) における変換の後に鉱酸で酸性化されることを特徴とする、請求項 1 ~ 10 記載の方法。

【請求項 12】

式 I I I で示されるジペプチドが、単離されずに、方法工程 b) において直接使用されることを特徴とする、請求項 1 ~ 11 記載の方法。

【請求項 13】

工程 b) において閉環に使用される式 I V で示される化合物が、2,2-ジメトキシプロパンであることを特徴とする、請求項 1 ~ 12 記載の方法。

【請求項 14】

2,2-ジメトキシプロパンが、反応混合物に連続的に添加され、発生したメタノールを、並行して連続的に留去することを特徴とする、請求項 13 記載の方法。

【請求項 15】

工程 b) における閉環のための酸触媒が、メタンスルホン酸、(+)カンファー - 10 - スルホン酸、p - トルエンスルホン酸、p - トルエンスルホン酸ピリジニウムより選択されることを特徴とする、請求項 1 ~ 14 記載の方法。

【請求項 16】

工程 b) における閉環が、トルエン若しくはテトラヒドロフラン又はその混合物の存在下で実施されることを特徴とする、請求項 1 ~ 15 記載の方法。

【請求項 17】

工程 b) における閉環が、15 ~ 35 の範囲の温度で行われることを特徴とする、請求項 1 ~ 16 記載の方法。

【請求項 18】

10

20

30

40

50

- a) pHを7.0~9.0の範囲に維持しながら反応混合物を水で抽出すること；
 b) pHを5.5~6.0の範囲に維持しながら水相を水不混和性有機溶媒で抽出すること；
 c) 有機相から式Iで示される目的生成物を得ること、及び場合により
 d) 式Iで示される該目的生成物を有機溶媒中で結晶化させること
 を含む処理手順により、式Iで示される目的化合物を得ることを特徴とする、請求項1~17記載の方法。

【請求項19】

水不混和性有機溶媒が、トルエンであることを特徴とする、請求項18記載の方法。

【請求項20】

目的生成物を、トルエン、イソプロパノール及びヘプタンの混合物から結晶化させることを特徴とする、請求項18記載の方法。

【発明の詳細な説明】

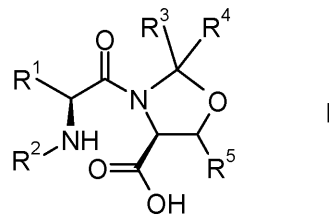
【技術分野】

【0001】

本発明は、式

【0002】

【化1】



10

20

で示される化合物の新規な製造方法に関するものである。

【0003】

式Iで示されるシュードプロリンジペプチドは、Ser、Thr、及びCysに対する可逆的保護基として使用することができ、ペプチド化学の分野におけるいくつかの固有の問題を克服するための多用途の手段であることが判明している [JACS 1996, 118, 9218-9227]。ペプチド配列内でProの存在は、分子間凝集の原因として見なされるシート構造の破壊を招く。結果として生じる溶媒和の増加及びFmoc固相ペプチド合成のようなペプチド組み立てにおけるカップリング動態は、特に「困難な配列」を有するペプチドのための鎖延長を促進する。

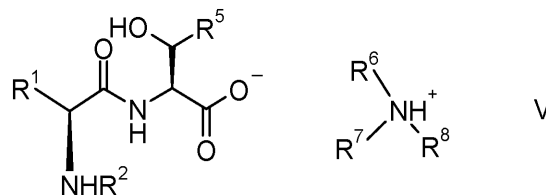
30

【0004】

シュードプロリンジペプチドの合成アプローチは、PCT公報である国際公開公報第2008/000641号に公開されている。式Iで示される化合物の入手は、式

【0005】

【化2】



40

[式中、R¹、R²、R⁵、R⁶、R⁷及びR⁸は、上記PCT公報に定義されている]で示されるアンモニウム塩中間体を経由して達成される。

【0006】

50

当技術分野で公知のアプローチの一つの主な欠点は、ジペプチドをそのアンモニウム塩中間体の単離により精製する必要があることであり、それを、閉環前に遊離させてジペプチドにしなければならない。したがって、この合成は、工業規模での応用に適さないことが判明した。

【0007】

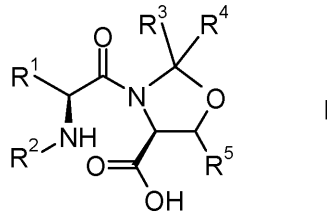
本発明の目的は、生成物を高収量で得ることを可能にする、式Iで示されるシュードプロリンジペプチドの簡潔で技術的に実現可能な合成を提供することである。

【0008】

その目的は、下記に概略する方法で達成された。式

【0009】

【化3】

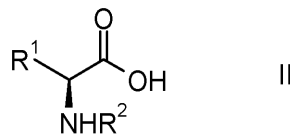


[式中、 R^1 は、 α -アミノ酸の側鎖であり、 R^2 は、アミノ保護基であり、 R^3 及び R^4 は、独立して水素（但し、 R^3 及び R^4 の両方ともが水素ではない）又は C_{1-4} -アルキルより選択され、 R^5 は、水素又はメチルである]で示される化合物の製造方法であって、

a) 式

【0010】

【化4】

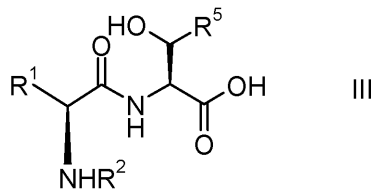


[式中、 R^1 及び R^2 は上記と同義である]

で示されるアミノ酸誘導体を、セリン又はトレオニンと共に、式

【0011】

【化5】



で示されるジペプチドに変換すること（それに関して活性化剤として水溶性カルボジイミドを使用する）、及び

b) 酸触媒の存在下で、式

【0012】

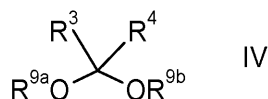
10

20

30

40

【化6】



[式中、 R^3 及び R^4 は、独立して水素又は C_{1-4} - アルキルより選択されるが、但し、 R^3 及び R^4 の両方ともが水素ではなく、 R^{9a} 及び R^{9b} は、独立して C_{1-4} - アルキルである]で示される化合物と共に式 III で示されるジペプチドの閉環を実施することを含む。

10

【0013】

さらに、セリン又はトレオニンは、その L - 型又は D - 型のいずれでも、ラセミ体として、又はその異性体の様々な混合物で使用できることが理解される。好ましくは、L - 型が使用される。

【0014】

用語「 C_{1-4} - アルキル」は、1 ~ 4 個の炭素原子の分岐又は直鎖一価飽和脂肪族炭化水素基を表す。この用語は、さらに、メチル、エチル、n - プロピル、イソプロピル、n - ブチル、s - ブチル及び t - ブチルのような基により例示される。

【0015】

置換基 R^1 のために使用される用語「アミノ酸の側鎖」は、特にバリン、ロイシン、イソロイシン、メチオニン、フェニルアラニン、アスパラギン、グルタミン、グルタミン酸、ヒスチジン、リシン、アルギニン、アスパラギン酸、アラニン、セリン、トレオニン、チロシン、トリプトファン、システイン、グリシン、アミノイソ酪酸及びプロリンより選択される - アミノ酸の側鎖を表す。

20

【0016】

ヒドロキシ基を担持するアミノ酸の側鎖において、そのヒドロキシ基は、下記に定義のヒドロキシ保護基によって場合により保護されている。追加的なアミノ基を担持する側鎖において、そのアミノ基は、下記に定義のアミノ保護基によって場合により保護されている。

30

【0017】

R^1 は、好ましくはバリン、ロイシン、イソロイシン、フェニルアラニン、アスパラギン、グルタミン、グルタミン酸、リシン、アスパラギン酸、アラニン、セリン、トレオニン、チロシン及びトリプトファンの側鎖を表す。さらに好ましい態様では、 R^1 は、セリン又はトレオニンの側鎖を表す。

【0018】

用語「アミノ保護基」は、アミノ基の反応性を妨げるために慣例的に使用される任意の置換基を表す。適切なアミノ保護基は、Green T., "Protective Groups in Organic Synthesis", Chapter 7, John Wiley and Sons, Inc., 1991, 309-385に記載されている。 R^2 の下に定義された適切なアミノ保護基は、酸性条件に耐えるべきである。好ましくは、Fmoc、Z、Moz、Troc、Teoc又はVoc、さらに好ましくはFmocが使用される。

40

【0019】

用語「ヒドロキシ保護基」は、ヒドロキシ基の反応性を妨げるために慣例的に使用される任意の置換基を表す。適切なヒドロキシ保護基は、Green T., "Protective Groups in Organic Synthesis", Chapter 1, John Wiley and Sons, Inc., 1991, 10-142に記載されている。適切なヒドロキシ保護基は、t - ブチル、ベンジル、TBDMs又はTBDPSである。好ましいヒドロキシ保護基は、t - ブチルである。

【0020】

明細書及び特許請求の範囲に使用される略語の意味は、下表に概略する通りである：

50

【 0 0 2 1 】

【表 1】

Fmoc	9-フルオレニルメトキシカルボニル	
Z	ベンジルオキシカルボニル	
tBu	t-ブチル	
Moz	p-メトキシベンジルオキシカルボニル	
Troc	2,2,2-トリクロロエトキシカルボニル	10
Teoc	2-(トリメチルシリル)エトキシカルボニル	
Voc	ビニルオキシカルボニル	
TBDMS	t-ブチルジメチルシリル エーテル	
TBDPS	t-ブチルジフェニルシリルエーテル	
HOBt	1-ヒドロキシベンゾトリアゾール	20
HOSu	N-ヒドロキシスクシンイミド	
EAC	1-エチル-3-(4-アゾニア-4,4-ジメチルペンチル)-カルボジイミド (ヨウ化物)	
EDC	(3-ジメチルアミノ-プロピル)-エチル-カルボジイミド (塩酸塩)	

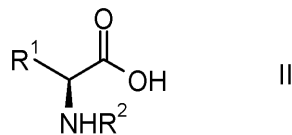
【 0 0 2 2 】

工程 a)

第 1 工程 a) では、式

【 0 0 2 3 】

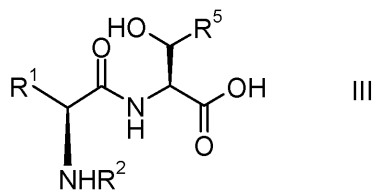
【化 7】

[式中、R¹ 及び R² は、上記と同義である]

で示されるアミノ酸誘導体をセリン又はトレオニンと共に式

【 0 0 2 4 】

【化 8】



で示されるジペプチドに変換する（それに関して活性化剤として水溶性カルボジイミドを使用する）。

【0025】

式 I I で示されるアミノ酸誘導体は、通常は市販の化合物である。R¹ 及び R² についての選択に従い、式 I I で示される適切なアミノ酸誘導体は、Fmoc-L-Ser(tBu)-OH、又は Fmoc-L-Thr(tBu)-OH である。

【0026】

適切な水溶性カルボジイミド活性化剤は、EDC 若しくは EAC 又はその塩であり、好ましくは EDC の塩酸塩である。

【0027】

通常、水溶性カルボジイミド活性化剤は、HOSu 又は HOBt より選択されるさらなる活性化剤と一緒に適用される。

10

【0028】

好ましい活性化剤は、EDC·HCl / HOSu である。

【0029】

式 I I で示されるアミノ酸誘導体 1 当量に対して、EDC は、普通は 1.0 ~ 1.5 当量で用いられ、HOSu は、普通は 1.0 ~ 1.5 当量で用いられる。

【0030】

通常、活性化反応は、酢酸エチル、N,N-ジメチルホルムアミド、アセトン又はテトラヒドロフラン、好ましくはテトラヒドロフラン及び / 又は N,N-ジメチルホルムアミドなどの適切な有機溶媒の存在下で、-10 ~ 25 の温度で行われる。

【0031】

次に、セリン又はトレオニン、好ましくは L-セリン又は L-トレオニンとのカップリングは、無機塩基の存在下で -10 ~ 25 の温度で行うことができる。

20

【0032】

普通はカップリングは、活性化反応から得られた活性化エステル溶液をセリン又はトレオニン及び無機塩基の水懸濁液に添加することによって実施される。

【0033】

適切な無機塩基は、リチウム、ナトリウム若しくはカリウムの炭酸塩などの炭酸アルカリ又は水酸化物又はその混合物である。

【0034】

好ましいのは、炭酸リチウム及び / 又は水酸化リチウムであり、さらに好ましいのは、炭酸リチウム及び水酸化リチウムの混合物である。

30

【0035】

無機塩基は、通常、セリン又はトレオニンに対して化学量論比で用いられる。

【0036】

セリン又はトレオニン：式 I I に示されるアミノ酸誘導体の比は、普通は、1.5 ~ 4.0 : 1、好ましくは 2.0 ~ 3.0 : 1 の範囲で選択される。

【0037】

反応混合物の pH は、7.5 ~ 9.5 の範囲に適宜維持される。

【0038】

変換の完了後に、反応混合物を鉱酸で酸性化する。適切な鉱酸は、硫酸水溶液又は HCl 水溶液、好ましくは硫酸水溶液である。

40

【0039】

式 I I I で示されるジペプチドは、当業者に公知の方法に従い単離することができる。本発明の好ましい態様では、式 I I I で示されるジペプチドは、それを単離せずに方法工程 b) に直接使用される。

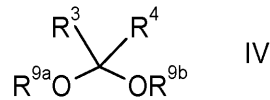
【0040】

工程 b)

工程 b) は、式

【0041】

【化 9】



【式中、 R^3 、 R^4 、 R^{9a} 及び R^{9b} は、上記と同義である】

で示される化合物と共に式 I I I で示されるジペプチドの閉環を酸触媒の存在下で、実施することを必要とする。

【0042】

10

好ましくは、閉環は、2, 2 - ジメトキシプロパンと共に実施される。理想的には、式 I V で示される化合物は、工程 b) で得られたジペプチドに対して 6 . 0 ~ 1 6 . 0 当量、好ましくは 7 . 0 ~ 1 2 . 0 当量で使用される。

【0043】

好ましい態様では、2, 2 - ジメトキシプロパンを反応混合物に連続的に添加され、並行して、発生したメタノールを連続的に留去する。

【0044】

反応温度は、普通は、15 ~ 35、好ましくは 20 ~ 30 の範囲に維持される。

【0045】

20

適切な酸触媒は、メタンスルホン酸、(+) カンファー - 10 - スルホン酸、p - トルエンスルホン酸又は p - トルエンスルホン酸ピリジニウムより選択され、メタンスルホン酸が好ましい。酸触媒は、普通は、工程 b) で得られた式 I I I で示されるジペプチドに対して、0 . 0 5 ~ 0 . 3 0 当量、好ましくは 0 . 0 8 ~ 0 . 1 5 当量で用いられる。

【0046】

理想的には工程 b) での変換に適用される有機溶媒は、実質的に水を含まない。適切な溶媒は、トルエン若しくはテトラヒドロフラン又はその混合物である。

【0047】

反応混合物の処理及び式 I で示される目的生成物の単離は、

a) pH を 7 . 0 ~ 9 . 0 の範囲、好ましくは 7 . 5 ~ 8 . 5 の範囲に維持しながら反応混合物を水で抽出すること

30

b) pH を 5 . 5 ~ 6 . 0 の範囲、好ましくは 5 . 5 ~ 5 . 7 の範囲に維持しながら水相を水不混和性有機溶媒で抽出すること、

c) 式 I で示される目的生成物を有機相から単離すること、及び場合により

d) 式 I で示される目的生成物を有機溶媒中で結晶化させること

を含む手順を適用しながら実施することができる。

【0048】

処理手順の工程 a) における pH 調整は、一般的な緩衝水溶液、例えば重炭酸ナトリウム水溶液を用いて起こりうるが、工程 b) における pH は、鉍酸水溶液を使用することによって、例えば硫酸水溶液を用いて調整することができる。

40

【0049】

水不混和性有機溶媒は、好ましくはトルエンである。

【0050】

工程 c) における単離は、普通は、有機溶媒の部分的蒸発により起こり、その後目的生成物は、トルエン、イソプロパノール及びヘプタンの混合物などの適切な有機溶媒中で結晶化させることによりさらに精製することができる。

【0051】

以下の実施例は、本発明を限定せずに例示するものである。

【0052】

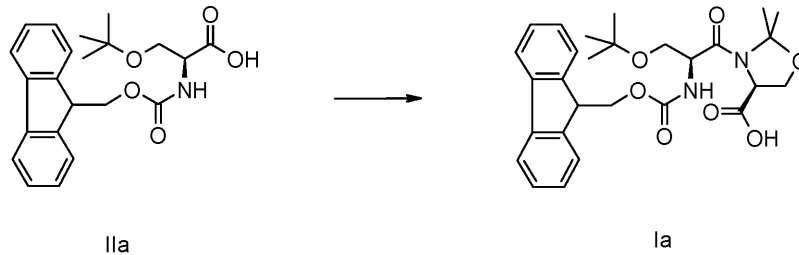
実施例

50

(S, S) - 3 - [3 - tert - ブトキシ - 2 - (9 H - フルオレン - 9 - イル - メトキシカルボニルアミノ) - プロピオニル] - 2 , 2 - ジメチル - オキサゾリジン - 4 - カルボン酸の合成

【 0 0 5 3 】

【 化 1 0 】



11a

1a

10

【 0 0 5 4 】

実施例 1 :

200 mL の THF 中の 16.1 g の N - ヒドロキシスクシンイミド及び 40.0 g の Fmoc - L - Ser (t Bu) - OH の溶液を、80 mL の DMF 及び 80 mL の THF 中の 26.0 g の 1 - (3 - ジメチルアミノプロピル) - 3 - エチルカルボジイミド塩酸塩の懸濁液に 20 で 30 ~ 60 分以内に添加した。結果として得られた混合物を周囲温度で 4 時間攪拌し、次にそれを、240 g の水中の 8.75 g の水酸化リチウム一水和物、6.1 g の炭酸リチウム及び 33.2 g の L - セリンの予冷 (- 5) 懸濁液に 30 ~ 45 分以内に添加した。結果として得られた混合物を 30 分以内に室温まで温め、次に、この温度でもう 1 時間攪拌した。次に、その混合物を - 5 に冷却し、約 150 g の硫酸 (20 % 水溶液) で pH を 8.5 から 2.0 ~ 2.5 に調整した。その二相性混合物を室温まで温め、次に下の水層を分離した。その水層を 200 mL のトルエンで抽出した。合わせた有機層を 150 mL のトルエンで希釈し、次に 150 mL の水で 5 回洗浄した。トルエン及び THF を用いた共沸蒸留により、有機層から水を除去した。無水 (< 0.05 %) のトルエン / THF 溶液 (約 500 mL) を 1.00 g のメタンスルホン酸で処理した。その混合物に 660 mL のトルエン中の 100 g の 2 , 2 - ジメトキシプロパンの溶液を 6 ~ 10 時間以内に添加した。全体の調合の間に、反応容積を一定 (約 600 mL) に維持しながら揮発性物質を減圧下 (80 ~ 30 mbar) で 20 ~ 28 の温度で蒸発させて除いた。完全に添加した後に、その混合物を約 500 mL の最終容積まで濃縮し、次に 1.35 g のトリエチルアミンで処理した。水 (50 mL) を添加し、層を分離した。有機層を 250 g の重炭酸ナトリウム (5 % 水溶液) で処理した。その二相性混合物 (pH 約 7.5) を 35 ~ 40 に加温し、この温度で 30 ~ 45 分間攪拌した。層を分離し、有機層を 70 g の重炭酸ナトリウム (5 % 水溶液) で 3 回抽出した。生成物を含む水層を合わせたものを 35 ~ 40 で 360 mL のトルエンで処理し、約 50 g の硫酸 (20 % 水溶液) の滴加により pH を 5.5 に調整した。水層を分離し、有機層を 50 g の水で 2 回洗浄した。結果として得られた有機層を周囲温度に冷却し、100 mL の水で希釈した。数滴の硫酸 (20 % 水溶液) の添加により pH を 4 に調整した。下の水層を除去し、有機層を 80 g の水で 2 回洗浄した。有機層を乾燥するまで濃縮した。残渣を 400 mL のイソプロパノールで処理し、結果として得られた溶液を乾燥するまで濃縮した。残渣を 90 mL のイソプロパノール及び 90 mL のヘプタンで希釈し、その混合物を 50 に加温し、透明な溶液を実現した。400 mL のヘプタンを 3 ~ 4 時間以内に添加した。次に、その混合物を 13 ~ 16 時間以内に - 10 に冷却し、結果として得られた懸濁液をこの温度で少なくとも 4 時間攪拌した。結晶を濾過して取り出し、80 mL の予冷ヘプタンで洗浄し、40 ~ 50 / < 30 mbar で乾燥させて、無色結晶として 31.6 g (60 %) の (S , S) - 3 - [3 - tert - ブトキシ - 2 - (9 H - フルオレン - 9 - イル - メトキシカルボニルアミノ) - プロピオニル] - 2 , 2 - ジメチル - オキサゾリジン - 4 - カルボン酸を得た (HPLC アッセイで 99.0 % (m / m)) 。

20

30

40

50

【 0 0 5 5 】

実施例 2 :

200 mLのTHF中の16.1 gのN-ヒドロキシスクシンイミド及び40.0 gのFmoc-L-Ser(tBu)-OHの溶液を、80 mLのDMF及び80 mLのTHF中の26.0 gの1-(3-ジメチルアミノプロピル)-3-エチルカルボジイミド塩酸塩の懸濁液に20 で30~60分以内に添加した。結果として得られた混合物を周囲温度で4時間攪拌し、次に、それを270 gの水中の8.75 g水酸化リチウム一水和物、6.1 gの炭酸リチウム及び33.2 gのL-セリンの予冷(-5)懸濁液に30~60分以内に添加した。結果として得られた混合物を30分以内に室温まで温め、次に、この温度でもう1時間攪拌した。次に、その混合物を-5 に冷却し、137 gの硫酸(20%水溶液)でpHを2.5に調整した。その二相性混合物を室温まで温め、次に下の水層を分離した。その水層を210 mLのトルエンで抽出した。合わせた有機層を100 mLのトルエンで希釈し、次に130 mLの水で5回洗浄した。トルエン及びTHFを用いた共沸蒸留により有機層から水を除去した。次に、結果として得られたトルエン/THF溶液(約550 mL)を1.00 gのメタンスルホン酸で処理した。次に、その混合物に1040 mLのトルエン中の134 gの2,2-ジメトキシプロパンの溶液を8~10時間以内に添加した。全体の調合の間に、反応容積を一定(約600 mL)に維持しながら揮発性物質を減圧下(80~30 mbar)で25~32 の温度で蒸発させて除いた。完全に添加した後に、その混合物を約500 mLの最終容積まで濃縮した。反応混合物を250 gの重炭酸ナトリウム(5%水溶液)で処理した。その二相性混合物を35~40 に加温し、この温度で15分間攪拌した。層を分離し、有機層を100 gの重炭酸ナトリウム(5%水溶液)で抽出した。生成物を含有する水層を合わせたものをトルエン(150 mL)で洗浄した。水層を300 mLのトルエンで35~40 で処理し、約45 gの硫酸(20%水溶液)の滴加によりpHを5.7に調整した。次に水層を分離し、有機層を80 gの水で3回洗浄した。結果として得られた、生成物を含有する有機層を80 mLの水で処理した。硫酸(20%水溶液)を数滴加えることによりpHを4に調整した。下の水層を除去し、有機層を80 gの水で2回洗浄した。有機層を約170 mLの残留容積まで濃縮した。その混合物を55~60 に加温し、イソプロパノール(15 mL)を添加した。結果として得られた透明溶液を300 mLのヘプタンで55~60 で2~4時間以内に処理した。結果として得られた懸濁液を10時間以内に0 に冷却し、この温度で3時間攪拌した。結晶を濾過して取り出し、100 mLの予冷したヘプタンで洗浄し、50 / < 30 mbarで乾燥させ、無色結晶として33.6 g(63%)の(S,S)-3-[3-tert-ブトキシ-2-(9H-フルオレン-9-イル-メトキシカルボニルアミノ)-プロピオニル]-2,2-ジメチル-オキサゾリジン-4-カルボン酸を得た(HPLCアッセイで99.4%(m/m))。

10

20

30

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2009/062568

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER INV. C07K1/02 C07K5/06 C07K5/062		
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED		
Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) C07K		
Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched		
Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used) EPO-Internal, WPI Data, BEILSTEIN Data, BIOSIS, EMBASE, CHEM ABS Data		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	WO 2008/000641 A (HOFFMANN LA ROCHE [CH]; AMMANN THOMAS [CH]; GOETZOE STEPHAN [CH]; THER) 3 January 2008 (2008-01-03) cited in the application claims 1,5,14,15	1-17
Y	TORSTEN WÖHR ET AL: "Pseudo-Prolines as a Solubilizing, Structure-Disrupting Protection Technique in Peptide Synthesis" JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, WASHINGTON, DC, US, vol. 118, no. 39, 2 October 1996 (1996-10-02), pages 9218-9227, XP002447320 ISSN: 0002-7863 cited in the application scheme 1; route B	1-17
	-/-	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of Box C.		
<input checked="" type="checkbox"/> See patent family annex.		
* Special categories of cited documents:		
<p>"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance</p> <p>"E" earlier document but published on or after the international filing date</p> <p>"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)</p> <p>"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means</p> <p>"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed</p> <p>"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention</p> <p>"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone</p> <p>"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.</p> <p>"&" document member of the same patent family</p>		
Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report	
26 October 2009	05/11/2009	
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5816 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel: (+31-70) 940-2040, Fax: (+31-70) 940-3016	Authorized officer James, Sonya	

Form PCT/ISA/210 (second sheet) (April 2009)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2009/062568

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 00/46239 A (DEBIOPHARM SA [CH]; MUTTER MANFRED [CH]; WENGER ROLAND M [CH]; GUICHOU) 10 August 2000 (2000-08-10) page 10, line 20 - line 27; example 3; compound V	1-20
A	WOHR T ET AL: "Pseudo-Prolines in Peptide Synthesis: Direct Insertion of Serine and Threonine Derived Oxazolidines in Dipeptides" TETRAHEDRON LETTERS, ELSEVIER, AMSTERDAM, vol. 36, no. 22, 29 May 1995 (1995-05-29), pages 3847-3848, XP004027998 ISSN: 0040-4039 scheme 1	1-20

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2009/062568

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2008000641 A	03-01-2008	AU 2007263805 A1	03-01-2008
		CA 2654914 A1	03-01-2008
		CN 101472939 A	01-07-2009
		EP 2038295 A1	25-03-2009
		KR 20090021361 A	03-03-2009
		US 2008004451 A1	03-01-2008
WO 0046239 A	10-08-2000	AT 330968 T	15-07-2006
		AU 2125300 A	25-08-2000
		DE 60028936 T2	11-01-2007
		DK 1150999 T3	30-10-2006
		EP 1150999 A1	07-11-2001
		ES 2267492 T3	16-03-2007
		PT 1150999 E	31-10-2006
		US 6790935 B1	14-09-2004

フロントページの続き

(81)指定国 AP(BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), EA(AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), EP(AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, SE, SI, SK, SM, TR), OA(BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG), AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN, KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW

Fターム(参考) 4C056 AA01 AB01 AC02 AD01 AE01 AF01 BA03 BB14 BC05
4H045 AA20 BA11 BA51 EA60 FA30 FA40 FA50 FA58 GA40