

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 特 許 公 報(B2)

(11) 特許番号

特許第5362593号
(P5362593)

(45) 発行日 平成25年12月11日(2013.12.11)

(24) 登録日 平成25年9月13日(2013.9.13)

(51) Int. Cl.		F I	
C07K	1/10	(2006.01)	C07K 1/10
C07K	5/06	(2006.01)	C07K 5/06
C07K	1/06	(2006.01)	C07K 1/06

請求項の数 11 (全 16 頁)

(21) 出願番号	特願2009-554044 (P2009-554044)	(73) 特許権者	594016872
(86) (22) 出願日	平成20年3月21日 (2008.3.21)		サントル、ナショナル、ド、ラ、ルシェ
(65) 公表番号	特表2010-522144 (P2010-522144A)		ルシュ、シアンティフィック、(セーエヌエ
(43) 公表日	平成22年7月1日 (2010.7.1)		ルエス)
(86) 国際出願番号	PCT/EP2008/053444		フランス国パリ、リュ、ミケ、ランジュ、
(87) 国際公開番号	W02008/125418		3
(87) 国際公開日	平成20年10月23日 (2008.10.23)	(73) 特許権者	504462319
審査請求日	平成23年3月2日 (2011.3.2)		ユニヴェルシテ ドゥ モンペリエ アン
(31) 優先権主張番号	0753970		UNIVERSITE DE MONTP
(32) 優先日	平成19年3月21日 (2007.3.21)		ELLIER 1
(33) 優先権主張国	フランス (FR)		フランス共和国, エフ-34006 モン
		(74) 代理人	100075812
			弁理士 吉武 賢次

最終頁に続く

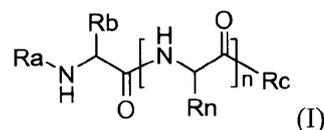
(54) 【発明の名称】 溶媒を用いずにペプチドを合成する方法

(57) 【特許請求の範囲】

【請求項 1】

下式 (I) :

【化 1】



[式中、

n は、1 以上の整数であり；

R b および各 R n は、互いに独立に水素原子、アリール (C₁ - C₆ アルキル) 基または C₁ - C₆ アルキル基 (アリール基、-COOH、-COO-(C₁ - C₆ アルキル)、-CONH₂、-SH、ヘテロアリール、-NH₂、-NHC(NH)(NH₂)、-S-(C₁ - C₆ アルキル)、-OH またはフェノールで置換されている、または置換されていない) を表し、ここで NH₂、NH、COOH、OH、SH の官能基は、1 以上の同一または異なる N - 保護基または O - 保護基で保護されていてもよく、かつ、R a とは異なり；

R a は、N - 保護基を表し；

R c は、-OR d 基を表し、ここで、R d は C₁ - C₆ アルキル基または -NR e R f 基を表し、ここで、R e および R f は互いに独立に N - 保護基を表す]

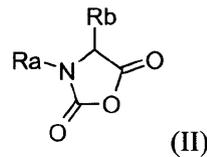
10

20

の化合物を合成する方法であって、下記工程：

(a) 塩基の存在下で、いずれの溶媒も用いずに、下式 (I I) :

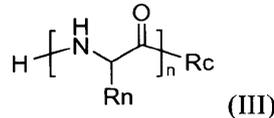
【化 2】



(式中、R a および R b は先に定義した通りである)

の化合物と、下式 (I I I) :

【化 3】



(式中、n、R n および R c は先に定義した通りである)

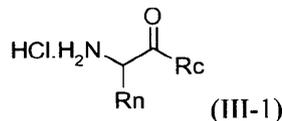
の化合物ならびにその薬学上許容される塩とを反応させること
を含んでなる、方法。

【請求項 2】

n が 1 であり、

工程 (a) が、塩基の存在下で、いずれの溶媒も用いずに、式 (I I) の化合物と下式
(I I I - 1) :

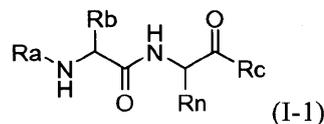
【化 4】



(式中、R 1 および R c は先に定義した通りである)

の化合物とを反応させて、下式 (I - 1) :

【化 5】



(式中、R a、R b、R c および R n は先に定義した通りである)

の化合物を得ることからなる、請求項 1 に記載の方法。

【請求項 3】

工程 (a) が、ボールミルの手段により行われる、請求項 1 または 2 に記載の方法。

【請求項 4】

塩基が、炭酸塩からなる群から選択される、請求項 1 ~ 3 のいずれか一項に記載の方法

【請求項 5】

R b および各 R n が、水素、-CH₃、ベンジル基、-CH₂CONH₂、-CHCH₃C₂H₅、-(CH₂)₃NHC(NH)(NH₂)、-CH(OH)CH₃、-CH₂COOH、-CH₂SH、-CH₂CH₂COOH、-CH₂CH₂CONH₂、イミダゾリルメチル、プロピル、-CH₂CH(CH₃)₂、-(CH₂)₄NH₂、-(CH₂)₂SCH₃、-CH₂OH、インドール-2-イルメチル、p-メチルフェノール、イソプロピル基からなる群から独立に選択され、これらの基のNH₂、NH、COOH、SH および OH 官能基が、1 以上の同一または異なる O - 保護基および / または N - 保護基で保護されていてもよく、かつ、R a とは異なる、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記

10

20

30

40

50

載の方法。

【請求項 6】

R a、R e および R f が、互いに独立に、tert - ブチルオキシカルボニル、9 - フルオレニルメチルオキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、ニトロ - ベラトリルオキシカルボニルからなる群から選択され；

R b が、イソプロピル、ベンジルおよび - CH₂COOt - Bu からなる群から選択され；

各 R n が、互いに独立に、メチル、ベンジルおよび - CH₂CH(CH₃)₂ からなる群から選択され；

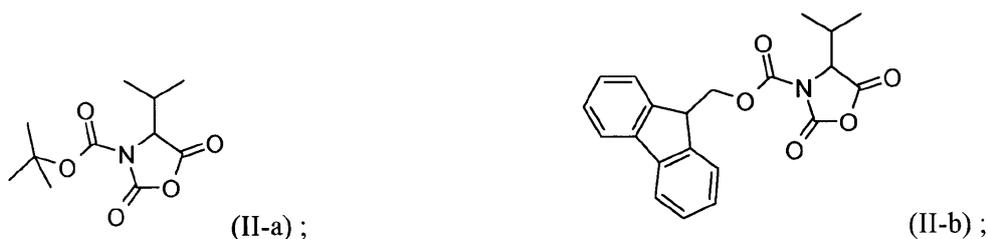
R d が、メチルおよびテルチオブチルからなる群から選択される、請求項 1 ~ 4 のいずれか一項に記載の方法。

10

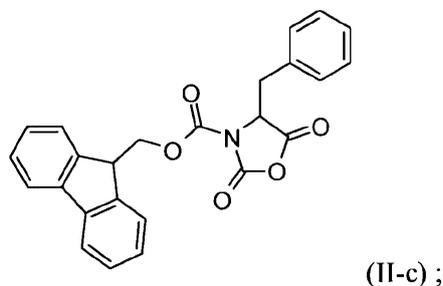
【請求項 7】

化合物 (II) が、下式 (II - a)、(II - b) および (II - c) の化合物：

【化 6】



20

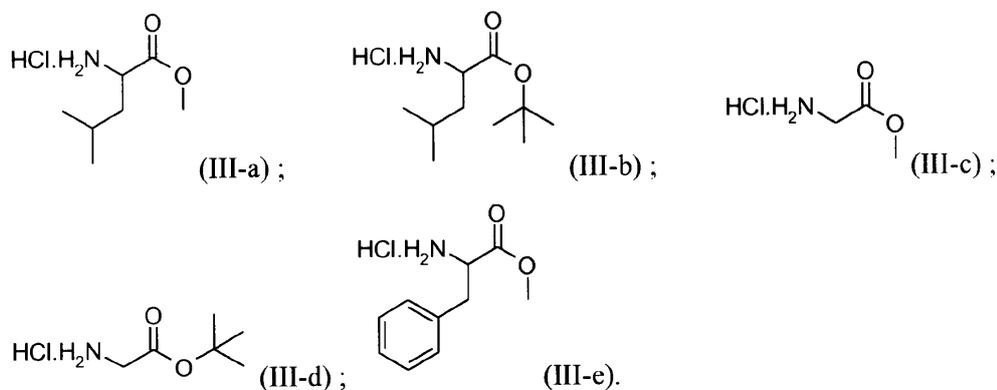


からなる群から選択され；

30

化合物 (III) が、下式 (III - a)、(III - b)、(III - c)、(III - d) および (III - e) の化合物：

【化 7】



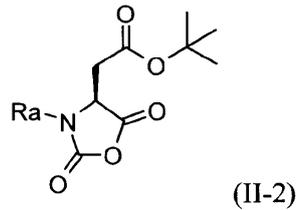
40

からなる群から選択される、請求項 2 ~ 6 のいずれか一項に記載の方法。

【請求項 8】

式 (II) の化合物が、下式 (II - 2)：

【化 8】



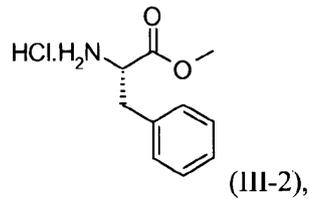
(式中、R a は請求項 1 に定義した通りである)

を有し、

10

式 (I I I) の化合物が、下式 (I I I - 2) :

【化 9】

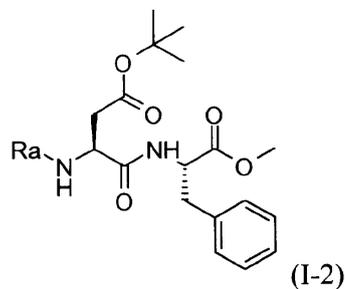


を有し、かつ、

式 (I) の化合物が、下式 (I - 2) :

20

【化 1 0】



(式中、R a は請求項 1 に定義した通りである)

30

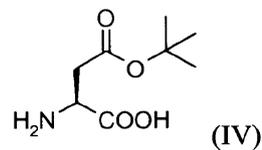
を有する、請求項 2 に記載の方法。

【請求項 9】

式 (I I - 2) の化合物が、下記の一連の工程 :

1) 下式 (I V) :

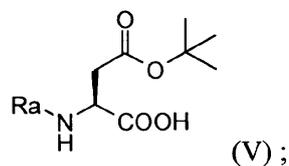
【化 1 1】



40

の化合物のアミン基を N - 保護基 R a で保護して、下式 (V) :

【化 1 2】

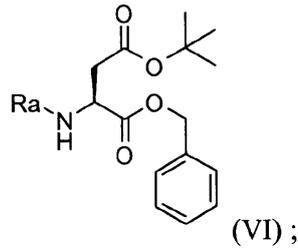


の化合物を形成させること :

2) 式 (V) の化合物を、塩基の存在下でハロゲン化ベンジルと反応させて、下式 (V I) :

50

【化 1 3】



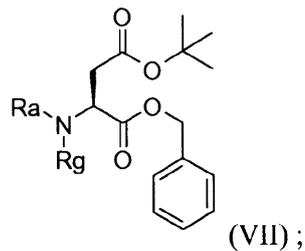
(式中、R a は先に定義した通りである)

10

の化合物を得ること；

3) 式 (VI) の化合物のアミン基を N - 保護基 R g で保護して、下式 (VII) :

【化 1 4】



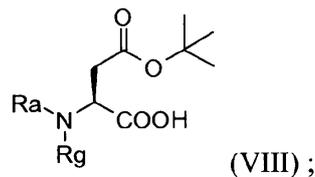
20

(式中、R a および R g は先に定義した通りである)

の化合物を形成させること；

4) 式 (VII) の化合物を、下式 (VIII) :

【化 1 5】



30

(式中、R a および R g は先に定義した通りである)

の化合物へと還元すること；

5) 式 (VIII) の化合物を、DMF および塩化オキサリルとの反応により、式 (I - 2) の化合物へと環化すること

を含んでなる方法により製造される、請求項 8 に記載の方法。

【請求項 10】

R a および R g が、tert - ブチルオキシカルボニルである、請求項 9 に記載の方法

。

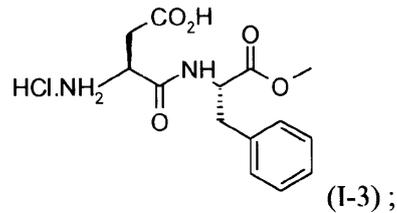
【請求項 11】

40

更に以下の一連の工程：

(b) 工程 (a) で得られた式 (I - 2) の化合物と酸とを反応させて、下式 (I - 3) :

【化 1 6】

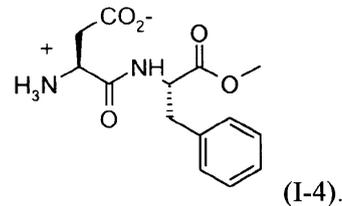


の化合物を形成させること；

(c) 式 (I - 3) の化合物と塩基とを反応させて、下式 (I - 4) ；

10

【化 1 7】



の化合物を形成させること

を含んでなる、請求項 8 ~ 1 0 のいずれか一項に記載の方法。

20

【発明の詳細な説明】

【発明の詳細な説明】

【 0 0 0 1】

本発明は、いずれの溶媒も用いずにペプチドを合成する方法に関する。

【 0 0 0 2】

ペプチドは、それらの高い治療指数と低い毒性のため、これまで薬学上有効な成分と考えられてきた。それらのバイオアベイラビリティを高める新規な投与系の進展のために、治療用ペプチドの市場はこの先何年かで急速に発展すると思われる。

【 0 0 0 3】

しかし、これらの化合物を合成するための有効な方法の必要性は常にある。十分確立されている生産手順（溶液中、固相、組換えによる）にもかかわらず、合成、特に固相支持体上での合成、に必要な大量の溶媒に伴う多くの開発上の問題がなお存在する（大きなペプチドでは 2 , 0 0 0 ~ 5 , 0 0 0 k g ）。

30

【 0 0 0 4】

現在の環境問題が深刻なため、「グリーン化学」の分野がますます広がっている。代替原料および無毒な試薬の使用、天然プロセスの使用、代替溶媒の使用、より安全な化学製品の設計、他の反応条件の開発、エネルギー消費の最小化など、この課題のいくつかの分野が出現している。

【 0 0 0 5】

特に有効な分野は、揮発性有機溶媒または塩素系溶媒に取って代わるよう、また、溶媒廃棄物を処理または再循環する問題を解決するために、水性、イオン性、フッ素系または超臨界液などの代替溶媒にある。

40

【 0 0 0 6】

別のアプローチは、溶媒の不在下で化学反応を起こすことからなる。固体の混合または粉碎などの技術が有効であることが分かっている。しかしながらやはり、これらの生体分子の重要性にもかかわらず、ペプチドまたはアミノ酸合成などの分野へこれらの技術は適用されてない。

【 0 0 0 7】

本発明者らは、驚くべきことに、いずれの溶媒も用いない条件下でペプチドを合成するための新規な経路を見出した。

50

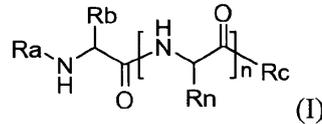
【0008】

驚くべきことに、本発明者らは、ウレタンにより保護されたアミノ酸のカルボキシ無水物（ウレタン保護N-カルボキシ無水物（UNCA））とアミノ酸またはアミノエステルとのカップリングを達成し、しかもこれらの化合物は全て、室温のボールミル（ball milling）条件下で固体の形態のままである。

【0009】

より具体的には、本発明は、下式（I）：

【化1】



10

[式中、

nは、1以上の整数であり、有利には1～100を含み、より有利には1～50を含み、さらにより有利には1または2に等しく；

Rbおよび各Rnは、互いに独立に水素原子、アリール（C₁-C₆アルキル）基またはC₁-C₆アルキル基（アリール基、-COOH、-COO-（C₁-C₆アルキル）、-CONH₂、-SH、ヘテロアリール、-NH₂、-NHC（NH）（NH₂）、-S-（C₁-C₆アルキル）、-OHまたはフェノール基で置換されている、または置換されていない）を表し、-COOH、NH₂、OH、SHおよびNHの基は所望により1

20

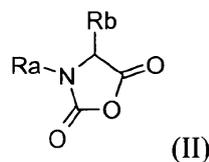
であり； RaはN-保護基を表し；

Rcは-ORd基を表し、ここで、RdはC₁-C₆アルキル基または-NReRf基を表し、ここで、ReおよびRfは互いに独立にN-保護基を表す]

の化合物を合成する方法であって、

(a) 塩基の存在下で、溶媒を用いずに、下式（II）：

【化2】

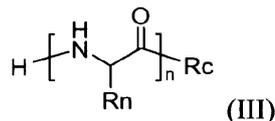


30

(式中、RaおよびRbは先に定義した通りである)

の化合物と下式（III）：

【化3】



40

(式中、n、RnおよびRcは先に定義した通りである)

の化合物ならびにその薬学上許容される塩、好ましくは、塩化物、酢酸塩およびトリフルオロ酢酸塩とを反応させることからなる工程、を含むことを特徴とする方法に関する。

【0010】

本発明の意味において、「溶媒を用いない」とは、反応が溶媒の不在下で起こることを意味する。本発明による溶媒は、試薬を可溶化するが、反応には直接関与しない製品である。よって、本発明の範囲内で、塩基は溶媒ではない。

【0011】

さらに、本発明による方法では、使用される試薬は全て固体状態である。これは特に式

50

IIおよび式IIIの化合物ならびに塩基の場合である。よって、この反応は固体状態で起こり、溶液中で起こるのではない。有利には、これらの試薬は、ボールミルにより得られるような微粉碎された固体状である。

【0012】

この種の反応の利点は、溶媒の使用を抑制すること（グリーン化学）だけでなく、反応、処理の適用を促進し、極めて純粋な生成物を取得可能とすることでもある。

【0013】

本発明の意味において「C₁ - C₆アルキル基」とは、1 ~ 6個の炭素原子を有する任意の直鎖または分枝アルキル基、特に、メチル、エチル、n-プロピル、イソプロピル、n-ブチル、イソ-ブチル、sec-ブチル、t-ブチル、n-ペンチル、n-ヘキシル基を意味する。有利には、これはメチルまたはt-ブチル基である。

10

【0014】

本発明の意味において「アリアル基」とは、5 ~ 8個の炭素原子を有する1以上の芳香環（並んで配置されても縮合していてもよい）を意味する。特に、アリアル基は単環式または二環式基、好ましくは、フェニル、ナフチル、テトラヒドロナフチルまたはインダニル基である。有利には、これはフェニル基である。

【0015】

本発明の意味において「ヘテロアリアル基」とは、例えば硫黄、窒素または酸素原子などの1または2個のヘテロ原子を含む3 ~ 9原子を有する任意の炭化水素芳香族基を意味する。本発明によるヘテロアリアル基は、1または2個の縮合環または並んで配置された環を伴って形成していてもよい。ヘテロアリアル基の例はフリル、イソキサジル、ピリジル、ピリミジル、ベンズイミダゾール、ベンズオキサゾール、ベンゾチアゾール基である。

20

【0016】

本発明の意味において「N-保護基」とは、Greene, "Protective Groups In Organic Synthesis", (John Wiley & Sons, New York (1981))およびHarrisonら "Compendium of Synthetic Organic Methods", Vols. 1-8 (J. Wiley & Sons, 1971-1996)に記載されているN-保護基など、NH₂基を望まない反応から保護する任意の置換基を意味する。N-保護基には、カルバメート、アミド、N-アルキル化誘導体、アミノアセタール誘導体、N-ベンジル化誘導体、イミン誘導体、エナミン誘導体およびN-ヘテロ原子誘導体が含まれる。特に、N-保護基には、ホルミル、アセチル、ベンゾイル、ピバロイル、フェニルスルホニル、ベンジル(Bn)、t-ブチルオキシカルボニル(boc)、ベンジルオキシカルボニル(cbz)、p-メトキシベンジルオキシカルボニル、p-ニトロベンジル-オキシカルボニル、トリクロロエトキシカルボニル(troc)、アリルオキシカルボニル(alloc)、9-フルオレニルメチルオキシカルボニル(fmoc)、トリフルオロアセチル基、ベンジルカルバメート（置換型または非置換型）などが含まれる。N-保護基としては、bocまたはcbzのいずれかが、比較的除去が容易なために使用に有利である（例えば、bocの場合には例えばトリフルオロ酢酸または酢酸エチル中の塩酸などの中程度の酸を用い、あるいはcbzの場合には触媒の水素化による）。有利には、これはboc基である。

30

40

【0017】

本発明の意味において「O-保護基」とは、Greene, "Protective Groups In Organic Synthesis", (John Wiley & Sons, New York (1981))およびHarrisonら "Compendium of Synthetic Organic Methods", Vols. 1-8 (J. Wiley & Sons, 1971-1996)に記載されているO-保護基など、ヒドロキシル基またはカルボキシル基、すなわち反応性酸素原子を望まない反応から保護する任意の置換基を意味する。O-保護基には、メチルまたはアルキルエーテル（置換型または非置換型）、例えば、メトキシメチル、ベンジルオキシメチル、2-メトキシエトキシメチル、2-(トリメチルシリル)エトキシメチル、t-ブチル、ベンジルおよびトリフェニルメチル、ベンジルエーテル（置換型または非置換型）、テトラヒドロピラニルエーテル、アリルエーテル、置換エチル（例えば2,2,2-トリク

50

ロロエチル)、エーテル、シリルエーテルまたはアルキルシリルエーテル(例えばトリメチルシリル、*t*-ブチルジメチルシリルおよび*t*-ブチルジフェニルシリル)、複素環式エーテル、ならびにヒドロキシル基と、例えば*tert*-ブチル、ベンジルまたはメチルなどのカルボン酸、炭酸塩、特に、炭酸ベンジルまたは炭酸ハロアルキル、酢酸塩、プロピオン酸塩、安息香酸塩などとの反応により生成されるエステルが含まれる。有利には、これはベンジル基である。

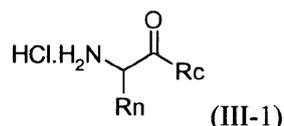
【0018】

次に、式Iの化合物を、その-OH、-NH₂、-SH、-NHおよび-COOH官能基が保護されていないペプチドを得るために、脱保護することができる。

【0019】

本発明の有利な実施形態では、*n*は1に等しく、工程(a)は、塩基の存在下で溶媒を用いずに式(II)の化合物を下式(III-1)：

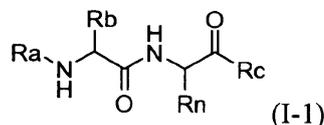
【化4】



(式中、R₁およびR_cは先に定義した通りである)

の化合物と反応させて、下式(I-1)：

【化5】



(式中、R_a、R_b、R_cおよびR_nは先に定義した通りである)

の化合物を得ることからなる。

【0020】

工程(a)は有利にはボールミル的手段により行う。

【0021】

式(II)および(III)の新しく調製された出発生成物から工程(a)を行うのが特に有利である。

【0022】

塩基は固体塩基であり、有利には、炭酸塩、特に、炭酸水素ナトリウム、炭酸水素カリウムおよび炭酸水素セシウム、ならびに炭酸ナトリウム、炭酸カリウムおよび炭酸セシウムからなる群から選択される。有利には、これは炭酸水素ナトリウムである。

【0023】

R_b置換基および各R_n置換基は、水素、-CH₃、ベンジル基、-CH₂CONH₂、-CH(CH₃)C₂H₅、-(CH₂)₃NHC(NH)(NH₂)、-CH(OH)CH₃、-CH₂COOH、-CH₂SH、-CH₂CH₂COOH、-CH₂CH₂CONH₂、イミダゾリルメチル、プロピル、-CH₂CH(CH₃)₂、-(CH₂)₄NH₂、-(CH₂)₂SCH₃、-CH₂OH、インドール-2-イルメチル、*p*-メチルフェノール、イソプロピル基からなる群から独立に選択される。先に示したように、これらの基のNH₂、NH、COOH、SHおよびOH官能基は有利には1以上の同一または異なるO保護基および/またはN-保護基で保護され、かつ、R_aとは異なる。

【0024】

有利には、これらのN-保護基および/またはO-保護基は、R_a基を除去するための条件下で安定である。

【0025】

本発明の有利な実施形態では、

R_a、R_eおよびR_fは、互いに独立に、*tert*-ブチルオキシカルボニル、9-フ

10

20

30

40

50

ルオレニルメチルオキシカルボニル、ベンジルオキシカルボニル、ニトロ - ベラトリルオキシカルボニルからなる群から選択され、かつ/または

R b は、イソプロピル、ベンジルおよび - CH₂COOt - Bu からなる群から選択され、かつ/または

各 R n は、互いに独立に、メチル、ベンジルおよび - CH₂CH(CH₃)₂ からなる群から選択され、かつ/または

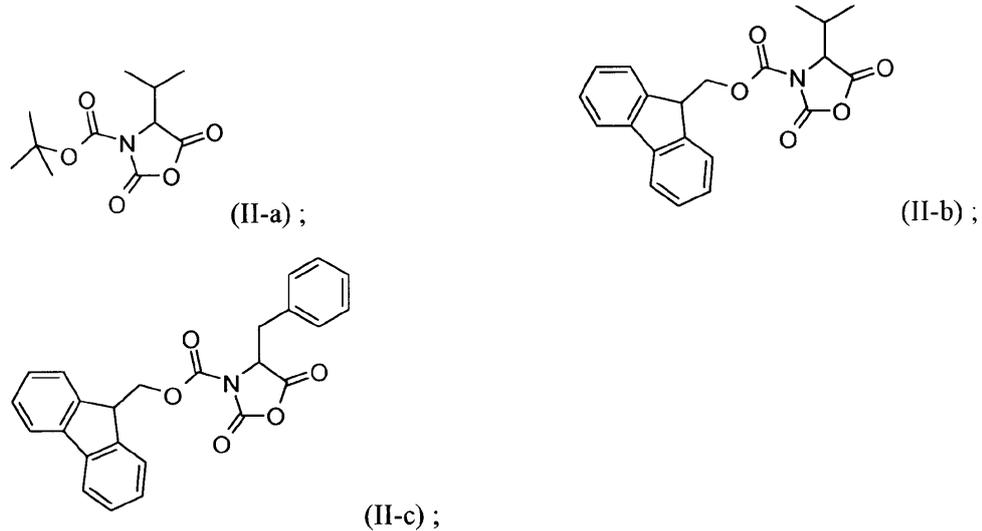
R d は、メチルおよびテルチオブチルからなる群から選択される。

【0026】

本発明の有利な実施形態では、化合物(II)は、下式(II-a)、(II-b)および(II-c)：

10

【化6】



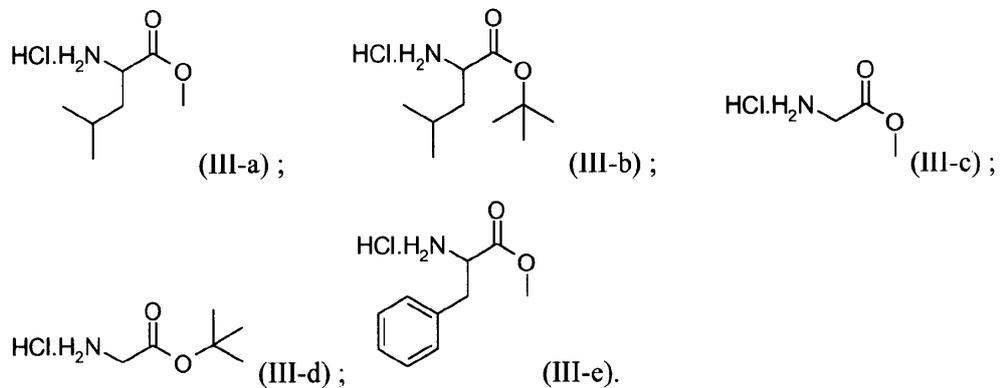
20

の化合物からなる群から選択され、

化合物(III)は、下式(III-a)、(III-b)、(III-c)、(III-d)および(III-e)：

【化7】

30



40

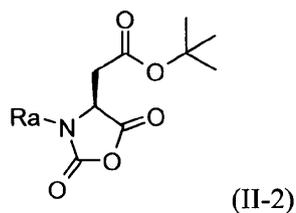
の化合物からなる群から選択される。

【0027】

本発明の別の有利な実施形態では、

式(II)の化合物は下式(II-2)：

【化 8】



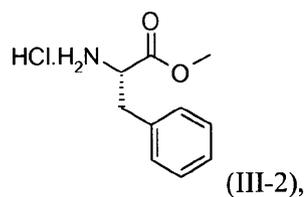
(式中、R a は先に定義した通りである)

を有し、

10

式 (I I I) の化合物は下式 (I I I - 2) :

【化 9】

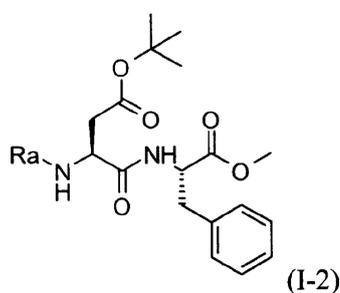


を有し、かつ、

式 (I) の化合物は下式 (I - 2) :

20

【化 1 0】



(式中、R a は先に定義した通りである)

30

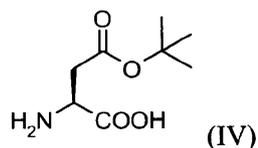
を有する。

【 0 0 2 8】

式 (I I - 2) の化合物は、以下の一連の工程 :

1) 下式 (I V) :

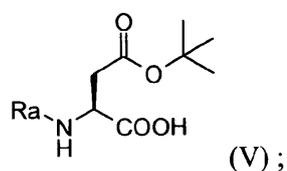
【化 1 1】



40

の化合物のアミン基を N - 保護基 R a で保護して下式 (V) :

【化 1 2】

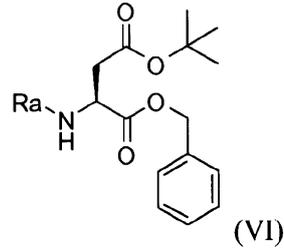


の化合物を形成させること ;

2) 式 (V) の化合物を、塩基、有利には炭酸セシウム存在下でハロゲン化ベンジルと反応させて、下式 (V I) :

50

【化 1 3】

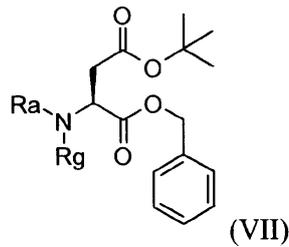


(式中、R a は先に定義した通りである)
の化合物を得ること；

10

3) 式 (VI) の化合物のアミン基を N - 保護基 R g で保護して、下式 (VII) :

【化 1 4】

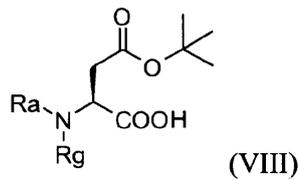


20

(式中、R a および R g は先に定義した通りである)
の化合物を形成させること；

4) 式 (VII) の化合物を下式 (VIII) :

【化 1 5】



30

(式中、R a および R g は先に定義した通りである)
の化合物へと還元すること；

5) 式 (VIII) の化合物を、DMF および塩化オキサリルとの反応により式 (I I - 2) の化合物へと環化すること
を含んでなる方法により製造することができる。

【0029】

置換基 R a および R g は有利には tert - ブチルオキシカルボニルを表す。

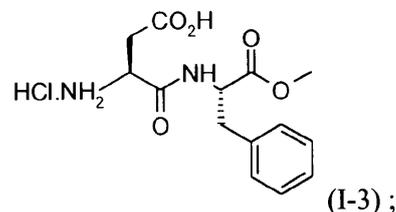
【0030】

有利な実施形態では、本方法は、更に一連の下記工程：

(b) 工程 (a) で得られた式 (I - 2) の化合物を酸、有利には塩酸ガス、と反応さ
せて、下式 (I - 3) :

40

【化 1 6】

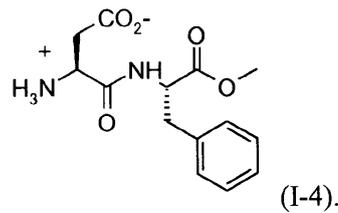


の化合物を形成させること；

50

(c)式(I-3)の化合物を塩基、有利には炭酸水素ナトリウム、と反応させて、下式(I-4)：

【化17】



10

の化合物を形成させること
を含んでなる。

【0031】

以下、限定されるものではないが、下記の実施例により本発明を説明する。

【実施例】

【0032】

実施例1：ジペプチドの合成

本発明者らは、以下の式：

【化18】



20

に従い、いずれの溶媒も用いずに、UNCAとアミノ酸誘導体との反応を行ってジペプチドを形成させた。

【0033】

この反応を、スチールボールの入った焼入れスチールタンク内、NaHCO₃ (1.5当量)の存在下、種々のアミノ酸 (1当量)とのBoc-Val-NCA、Fmoc-Val-NCAおよびBoc-Phe-NCA (1当量)カップリングで試験した。タンクは30Hzの頻度で1時間攪拌した。反応媒体を分析したところ、唯一ジペプチドの存在が検出された。これらの結果を種々のUNCAおよびアミノ酸誘導体とともに表1に示す。

30

【表1】

UNCA	アミノ酸	ジペプチド	変換 (%)	収率 (%)
Boc-Val-NCA	HCl.H-Leu-OMe	Boc-Val-Leu-OMe	100	87
	HCl.H-Leu-OBu	Boc-Val-Leu-OBu	97	85
	HCl.H-Ala-OMe	Boc-Val-Ala-OMe	100	100
	HCl.H-Ala-OBu	Boc-Val-Ala-OBu	100	100
	HCl.H-Phe-OMe	Boc-Val-Phe-OMe	100	88
Fmoc-Val-NCA	HCl.H-Leu-OMe	Fmoc-Val-Leu-OMe	90	-
	HCl.H-Leu-O-But	Fmoc-Val-Leu-OBu	92	-
	HCl.H-Ala-OMe	Fmoc-Val-Ala-OMe	100	76
	HCl.H-Ala-OBu	Fmoc-Val-Ala-OBu	78	-
	HCl.H-Phe-OMe	Fmoc-Val-Phe-OMe	93	-
Boc-Phe-NCA	HCl.H-Leu-O-Me	Boc-Phe-Leu-OMe	85	-
	HCl.H-Leu-OBu	Boc-Phe-Leu-OBu	100	70
	HCl.H-Ala-OMe	Boc-Phe-Ala-OMe	99	79
	HCl.H-Ala-OBu	Boc-Phe-Ala-OBu	100	73
	HCl.H-Phe-OMe	Boc-Phe-Phe-OMe	58	-

40

50

【0034】

種々のUNC A誘導体は同じ反応特性を示さない。全ての場合で、Boc - Val - NCAは、ジペプチドの形成に関して定量的に変換され、一方、両場合においてFmoc - Val - NCAはやや低い収率であった。

【0035】

最良の結果は新しく調製された出発物質(UNC Aまたはアミノエステルのいずれか)で得られたことを特に述べておくべきであろう。そうでない場合には、反応は不完全となし、UNC Aの加水分解が見られた。

【0036】

実施例2: アスパルテームの合成

アスパルテーム、または - L - アスパルチル - L - フェニルアラニン - メチルエステルは、サッカロースよりもおよそ150倍甘い栄養甘味料である。これは商業上魅力的なジペプチドであるが、溶媒の存在下でも不在下でもUNC Aからは未だ製造されていない。

【0037】

本発明者らは、いずれの溶媒も用いないボールミルにより、H - Phe - OMe · HCl (III - e) から、およびBoc - Asp (O - t - Bu) - NCA (II - a) からの工程において、保護されたアスパルテームを得た。

【0038】

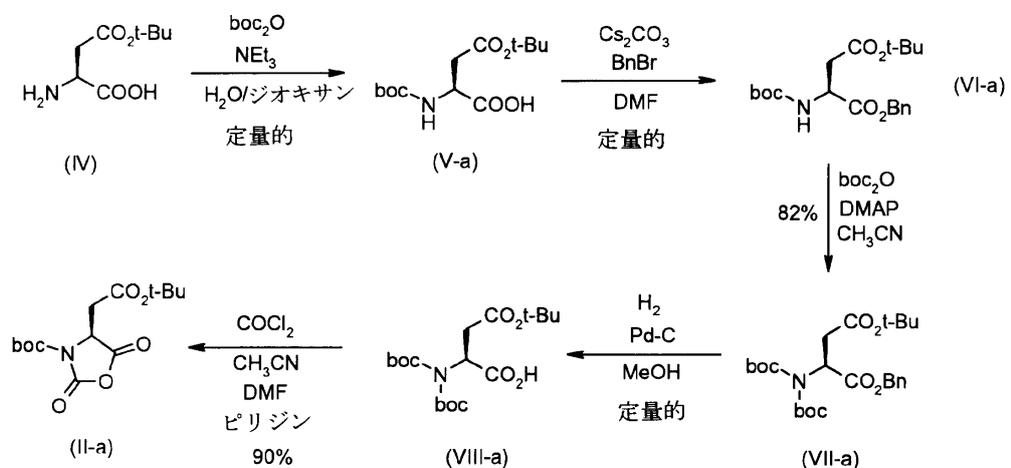
酸性条件下で同じ時間で切断可能であることから、保護基Bocおよびt - Buを選択した。さらにいずれの溶媒の使用を避けるため、保護基の除去にはHClガスを用いた。

【0039】

2.1. Boc - Asp (O - tBu) - NCA (II - a) の製造

この方法は、アミン官能基を保護するBocを1つ含む主鎖を有する遊離カルボン酸の環化からなり、従って、まず、(Boc)₂ - Asp (O - t - Bu) - OH (VII - a) の製造を必要とする。これは、Boc - Asp (O - t - Bu) - OH (V - a) の - カルボン酸をベンジルエステル(VI (a))へとエステル化した後、DMAPの存在下でBoc₂Oと反応させて、2つのBoc基で保護されたアミノ化合物(VII - a)を得、その後、水素化によりこのベンジルエステル基を脱保護して(VIII - a)を得ることにより達成した。

【化19】



【0040】

以下の工程は、Vilsmeier塩で保護したアミノ酸(VIII - a)の環化からなつた。最良の結果は、アセトニトリル中でDMFおよび塩化オキサリルの塩を形成することにより得られた。化合物(II - a)が90%の収率で得られた。

【0041】

2.2. アスパルテームの製造

10

20

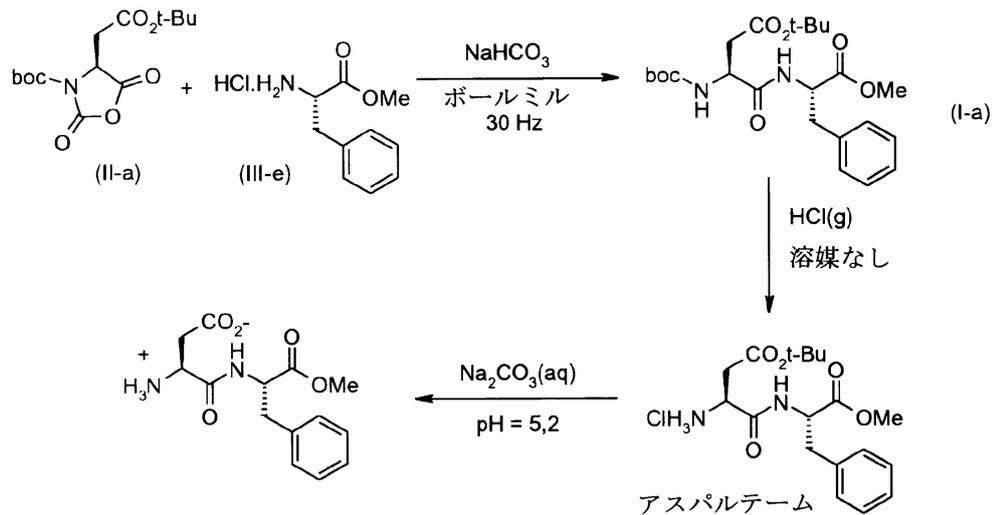
30

40

50

ジペプチドを製造するための上記の手順をアスパルテームの製造に適用した。

【化20】



【0042】

Boc-Asp(O-t-Bu)-NCA (II-a) および H-Phe-OMe · HCl (III-e) で出発し、ボールミル1時間後にジペプチド (I-a) が得られた。

【0043】

次に、これをそのまま、溶媒の不在下で2時間、HClガスと反応させて、保護基 Boc および t-Bu を除去し、塩酸型のアスパルテームを得た。これらの保護基 Boc および t-Bu の除去にだけは揮発性二次生成物が生じることを述べておく。両工程の収率は定量的であったことも述べておかなければならない。

【0044】

この塩酸塩を水に溶かし、Na₂CO₃水溶液でpHを5.2に調整した。得られたアスパルテームが沈殿した。これを濾過し、真空乾燥させて、40%収率で固体を得た。

【0045】

よって、いずれの有機溶媒も用いずに、いずれの有機二次生成物もなく、アスパルテームが純粋な形態で得られた。精製工程は、水から沈殿させて固体アスパルテームを得ることだけであった。

20

30

フロントページの続き

- (74)代理人 100091487
弁理士 中村 行孝
- (74)代理人 100094640
弁理士 紺野 昭男
- (74)代理人 100107342
弁理士 横田 修孝
- (74)代理人 100137497
弁理士 大森 未知子
- (72)発明者 ジャン、マルティネス
フランス国コー、ル、ジャルダン、デ、ミュゼ、リュ、ジャン、ムーラン、9
- (72)発明者 フレデリック、ラマティー
フランス国モンペリエ、リュ、デ、ロリオ、9
- (72)発明者 バレリー、デクラーク
フランス国ビルロング、ドード、ル、ジンスター

審査官 三原 健治

- (56)参考文献 特表2007-503419(JP,A)
FULLER W D, BIOPOLYMERS, 米国, 1996年 1月 1日, V40 N2, P183-205
Chem. Rev., Vol.100(2000)p.1025-1074
MCCLUSKEY A, TETRAHEDRON LETTERS, NL, ELSEVIER, 2002年 4月22日, V43 N17, P3117-3120

- (58)調査した分野(Int.Cl., DB名)
C07K 1/00-1/36
CAplus/MEDLINE/EMBASE/BIOSIS(STN)