
Octrooiraad



⑩ A **Terinzagelegging** ⑪ **8005006**

Nederland

⑲ NL

- ⑤4 **Dipeptide-zoetstof.**
- ⑤1 Int.Cl.³: C07C 103/52, A61K 37/02, A23L 1/236.
- ⑦1 Aanvrager: Stamicarbon B.V. te Geleen.
- ⑦4 Gem.: Dr. H.B. van Leeuwen c.s.
Octrooibureau DSM
Postbus 9
6160 MA Geleen.

-
- ②1 Aanvraag Nr. 8005006.
- ②2 Ingediend 4 september 1980.
- ③2 --
- ③3 --
- ③1 --
- ⑥2 --

-
- ④3 Ter inzage gelegd 1 april 1982.

De aan dit blad gehechte stukken zijn een afdruk van de oorspronkelijk ingediende beschrijving met conclusie(s) en eventuele tekening(en).

STAMICARBON B.V.

Uitvinders: Wilhelmus H.J. Boesten te Sittard

Lambertus A.C. Schiepers te Maastricht

1

3223

DIPEPTIDE-ZOETSTOF

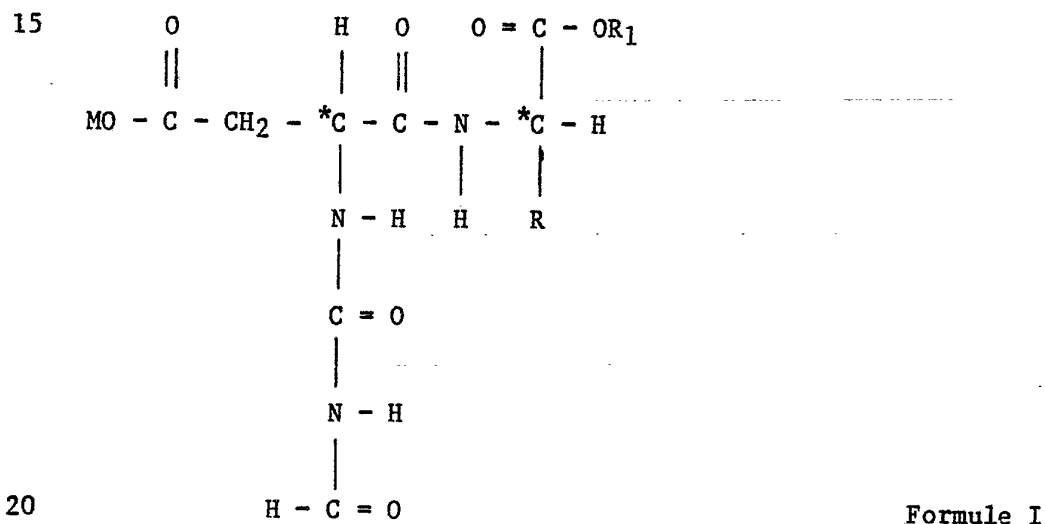
De uitvinding betreft nieuwe dipeptide-zoetstoffen en zoetende preparaten op basis van deze verbindingen.

Bekende dipeptide-zoetstoffen zijn o.a. L-alfa-aspartyl-L-fenylalaninemethylester, L-alfa-aspartyl-L-fenylglycinemethylester en
5 L-alfa-aspartyl-L-bêta-cyclohexylalaninemethylester. Nadeel van deze dipeptide-zoetstoffen is hun eigenschap om diketopiperazine derivaten te kunnen vormen.

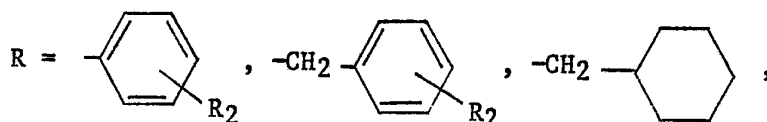
In de literatuur is gesteld dat alleen de dipeptiden zoet zijn. (zie: Journal of Medicinal Chemistry 1970, Vol. 13, No. 6, blz.
10 1217 en id. 1980, Vol. 23, No. 4, blz. 420.

Doel van de uitvinding is het verkrijgen van dipeptide-zoetstoffen die geen diketopiperazine derivaten kunnen vormen.

Er werd nu gevonden dat verbindingen met de formule I, zoetstoffen zijn.



waarin: M = waterstof, ammonium, alkali of aardalkali,



R₁ = methyl, ethyl, propyl,

R₂ = -OH, -OCH₃,

25 * = L Konfiguratie, voorstellen

8005006

Uit organoleptisch onderzoek is gebleken dat deze verbindingen ongeveer even zoet zijn als de onbeschermdere overeenkomstige dipeptide-zoetstoffen.

In Journal Med. Chemistry, Vol. 23, blz. 420 (1980) en Vol. 13, blz. 1217 (1970) wordt gesteld dat de ongesubstitueerde aminogroep van het asparaginezuur noodzakelijk is voor de zoetheid van de dipeptiden.

Verrassend is dat de door aanvraagster gevonden N-formylureïdobeschermende dipeptiden zoet zijn.

Voordeel van de N-beschermdere dipeptide-zoetstoffen en hun zouten is dat deze N-beschermdere dipeptide-zoetstoffen geen diketopiperazine derivaten kunnen vormen. Hierdoor zijn de N-beschermdere dipeptide-zoetstoffen stabielere en tredere er geen verlies aan zoetkracht op door het vormen van diketopiperazinederivaten die niet zoet zijn.

De nieuwe verbindingen volgens de uitvinding kunnen verkregen worden door de onbeschermdere dipeptiden te laten reageren met een alkalicynaat en het reactieprodukt te behandelen met het reactieprodukt van azijnzuuranhydride en mierzuur. Ook kan men de N-formylureïdo-derivaten bereiden door uit te gaan van N-formylureïdoasparaginezuuranhydride, verkregen door reactie van asparaginezuur met alkalicynaat en de verkregen ureïdoverbinding te laten reageren met het reactieprodukt van mierzuur en azijnzuuranhydride. Het verkregen produkt laten reageren met een alkylester van het aminozuur, al dan niet in zoutvorm, bijvoorbeeld zoals beschreven in de Nederlandse ter inzagelegging 7115944. Voorbeelden zijn: de N-formylureïdo verbindingen van de esters van L-alfa-aspartyl-L-fenylalanine, L-alfa-aspartyl-L-fenylglycine, L-alfa-aspartyl-L-bêta-cyclohexylalanine, L-alfa-aspartyl-L-tyrosine. De voorkeur gaat uit naar N-formylureïdo-L-alfa-aspartyl-L-fenylalanine-methylester vanwege de goede smaak en de grote zoetkracht.

De formylureïdo-beschermdere dipeptiden kunnen als zodanig toegepast worden of tot zoetende preparaten verwerkt worden bv. in de vorm van tabletten of oplossingen. Ook kunnen deze verbindingen gemengd met andere zoetmiddelen, zoals saccharine, als zoetmiddel toegepast worden.

De bereiding van de nieuwe zoetstoffen wordt aan de hand van de volgende niet beperkende voorbeelden toegelicht.

Voorbeeld I

In een kolf (0,5 l) voorzien van een roerder werd in een oplossing van 4,6 g (0,058 Mol) kaliumcyanaat in 100 ml water, 8,5 g (0,029 Mol) L-alfa-aspartyl-L-fenylalaninemethylester opgelost en vervolgens 24 uur bij kamertemperatuur geroerd. Daarna werd de ontstane troebeling gefiltreerd en het verkregen filtraat werd aangezuurd met HCl tot pH 2 en vervolgens ingedampt bij 30 °C en 12 mbar.

Het verkregen neerslag werd in 250 ml isopropanol opgenomen en weer ingedampt tot droog. Dit werd herhaald en de verkregen kristalmassa werd opgenomen in 500 ml isopropanol en vervolgens 1 uur geroerd. Daarna werd de suspensie gefiltreerd om het KCl te verwijderen en het verkregen filtraat werd ingedampt en gedroogd. Er werd 8,3 g (0,025 Mol) produkt verkregen, dat volgens kernspinresonantie (zie voor spektra figuur 1) en infraroodanalyse bestond uit N-ureïdo-L-alfa-aspartyl-L-fenylalaninemethylester. Opbrengst 85 %.

4 g (0,012 Mol) van deze ureïdoverbinding werd onder roeren bij 25 °C opgelost in een mengsel van 20 ml azijnzuuranhydride en 100 ml mierzuur. Bij deze temperatuur werd 18 uur gereageerd, waarna 3 ml water werd toegevoegd en vervolgens ingedampt tot droog.

Het droge produkt werd opgenomen in 100 ml diëthylether en daarna gefiltreerd. Het verkregen produkt werd op het filter met 2 maal 50 ml diëthylether gewassen en vervolgens gedroogd.

Verkregen werd 3,5 g (0,0096 Mol) produkt dat volgens kernspinresonantie (zie voor Spektra figuren 2, 3 en 4), massaspektrometrie en infraroodanalyse bestond uit N-formylureïdo-L-alfa-aspartyl-L-fenylalaninemethylester. Opbrengst 80 %.

Volgens organoleptisch onderzoek bleek dat deze verbinding 200 maal zoeter was dan sucrose. Er kon geen verschil gekonstateerd worden met de zoetstof L-alfa-aspartyl-L-fenylalaninemethylester.

Figuur 1 is het 100 MHz ^1H Spektrum van N-ureïdo-L-alfa-aspartyl-L-fenylalaninemethylester opgelost in DMSO d6.

Figuur 2 is het 100 MHz ^1H Spektrum van N-formylureïdo-L-alfa-aspartyl-L-fenylalaninemethylester, opgelost in DMSO d6.

Figuur 3 zijn de ontkoppelingsexperimenten bij 60 MHz aan N-formylureïdo-L-alfa-aspartyl-L-fenylalaninemethylester in DMSO d6 waarbij de ingestraalde frequenties met pijlen is aangegeven.

Figuur 4 is het 25,2 MHz ^{13}C spektrum van N-formylureïdo-L-alfa-aspartyl-L-fenylalanine-methylester in DMSO d_6 waarin a = ^1H ontkoppeld en b = niet ontkoppeld.

Voorbeeld II

5 In een kolf (0,5 l) voorzien van een roerder werd 4,3 g (0,015 Mol) L-alfa-aspartyl-L-fenylglycinemethylester onder roeren gesuspenseerd in een oplossing van 2,49 g (0,03 Mol) kaliumcyanaat in 125 ml water. Na 18 uur reageren bij 20 °C, werd gefiltreerd.

Het filtraat werd door aanzuren met HCl op pH 2 gebracht
10 waarbij kristallisatie begon. Na nog 15 minuten roeren werd gefiltreerd en de verkregen kristal massa gedroogd. Er werd 2,7 g vast produkt verkregen dat volgens kernspinresonantie en infraroodanalyse bestond uit N-ureïdo-L-alfa-aspartyl-L-fenylglycinemethylester. Door extraheren van het filtraat, 5 maal met 100 ml ethylacetaat werd nog
15 0,9 g van de ureïdoverbinding verkregen. Opbrengst 74 %.

1,3 g (0,004 Mol) van het N-ureïdo-L-alfa-aspartyl-L-fenylglycinemethylester werd in een mengsel van 10 ml azijnzuuranhydride en 50 ml mierzuur opgenomen, waarna nog 20 minuten bij 25 °C werd geroerd om alles op te lossen. Na 18 uur reageren werd 1,5 ml
20 water toegevoegd, goed geroerd en vervolgens ingedampt tot droog bij 30 °C en 12 mbar. Het verkregen produkt werd opgeroerd met 25 ml diëthylether en vervolgens gefiltreerd. De kristalbrij werd op het filter met 25 ml diëthylether gewassen en vervolgens gedroogd.

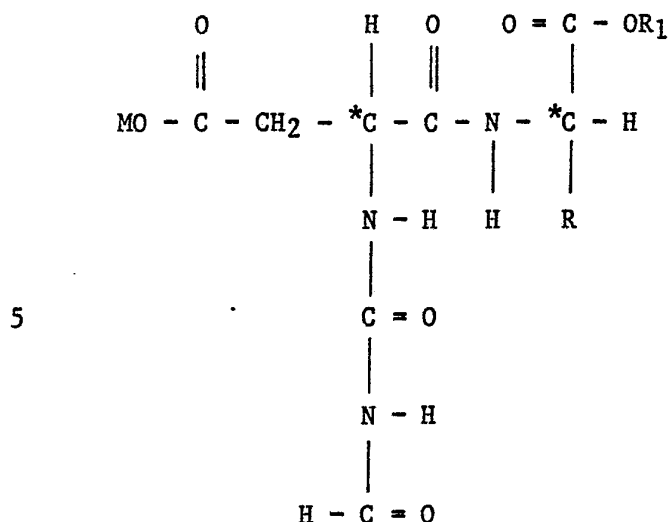
Er werd 1,2 g produkt verkregen dat volgens kernspinresonantie, massaspektrometrie en infraroodanalyse bestond uit N-formylureïdo-L-alfa-aspartyl-L-fenylglycinemethylester. Opbrengst 86 %.
25

Organoleptisch onderzoek leverde op dat deze verbinding 100 maal zoeter was dan sucrose.

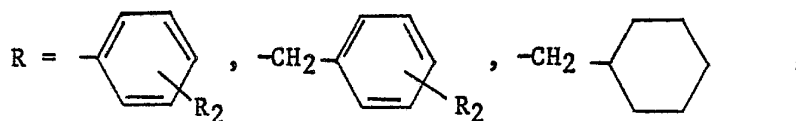
CONCLUSIES

3223

1. Verbindingen met de algemene formule



waarin M = waterstof, ammonium, alkali of aardalkali,



10 R_1 = methyl, ethyl, propyl,

R_2 = -OH, OCH₃,

* = L-konfiguratie, voorstellen.

2. N-formylureïdo-L-alfa-aspartyl-L-fenylalaninemethylester.

3. N-formylureïdo-L-alfa-aspartyl-L-fenylglycinemethylester.

15 4. Preparaat met zoetende werking bestaande uit een of meer verbindingen volgens konklusie 1 en een farmacologisch acceptabele drager.

5. Zoetmiddel bestaande uit preparaat volgens konklusie 4 naast andere zoetstoffen uit de groep saccharine, cyclamaat.

VNP/JB

8005006

4 BLADEN
BLAD 1.

8005006

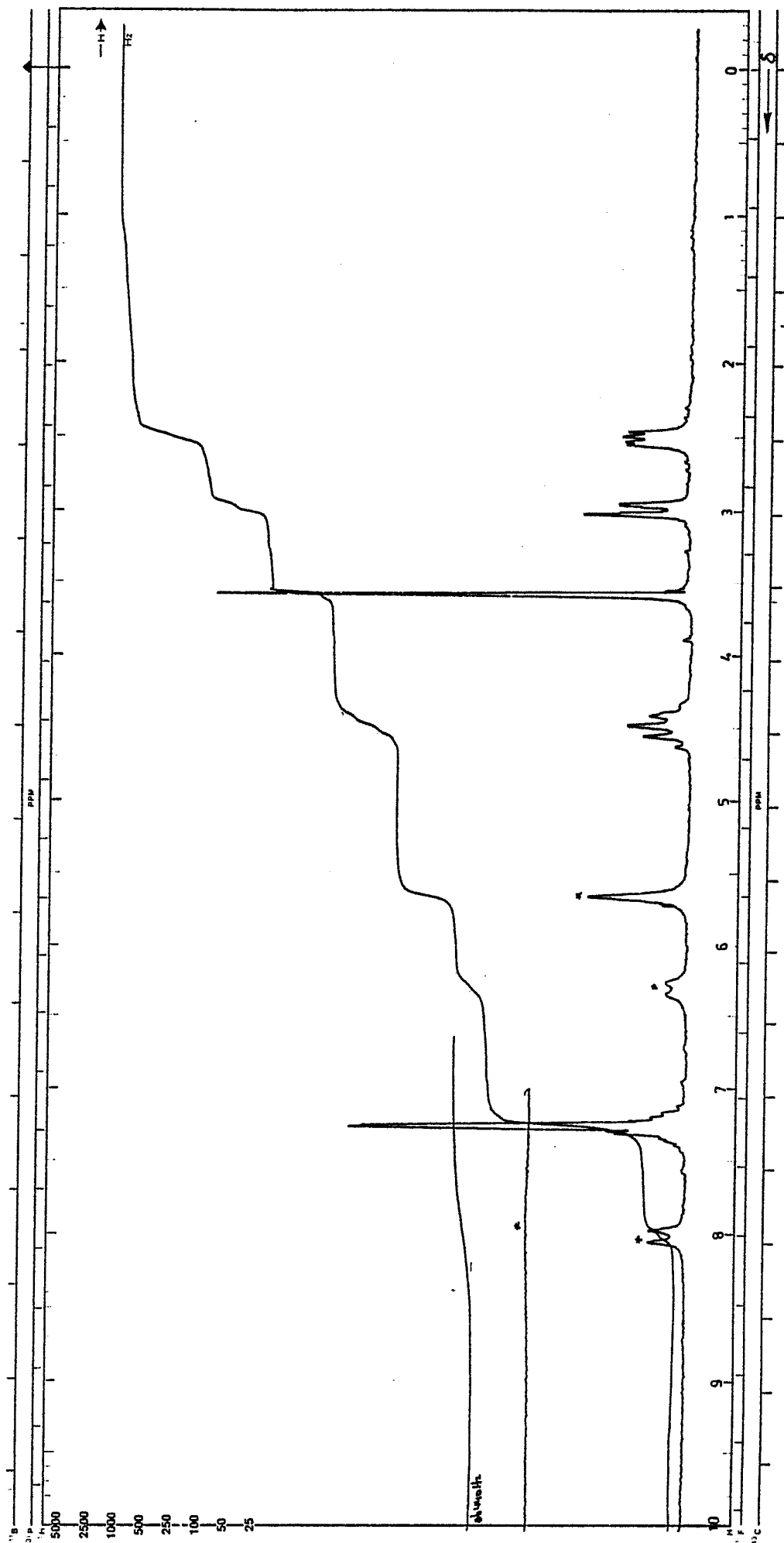


FIG. I.

3223

STAMICARBON B.V.

4 BLADEN
BLAD 2.

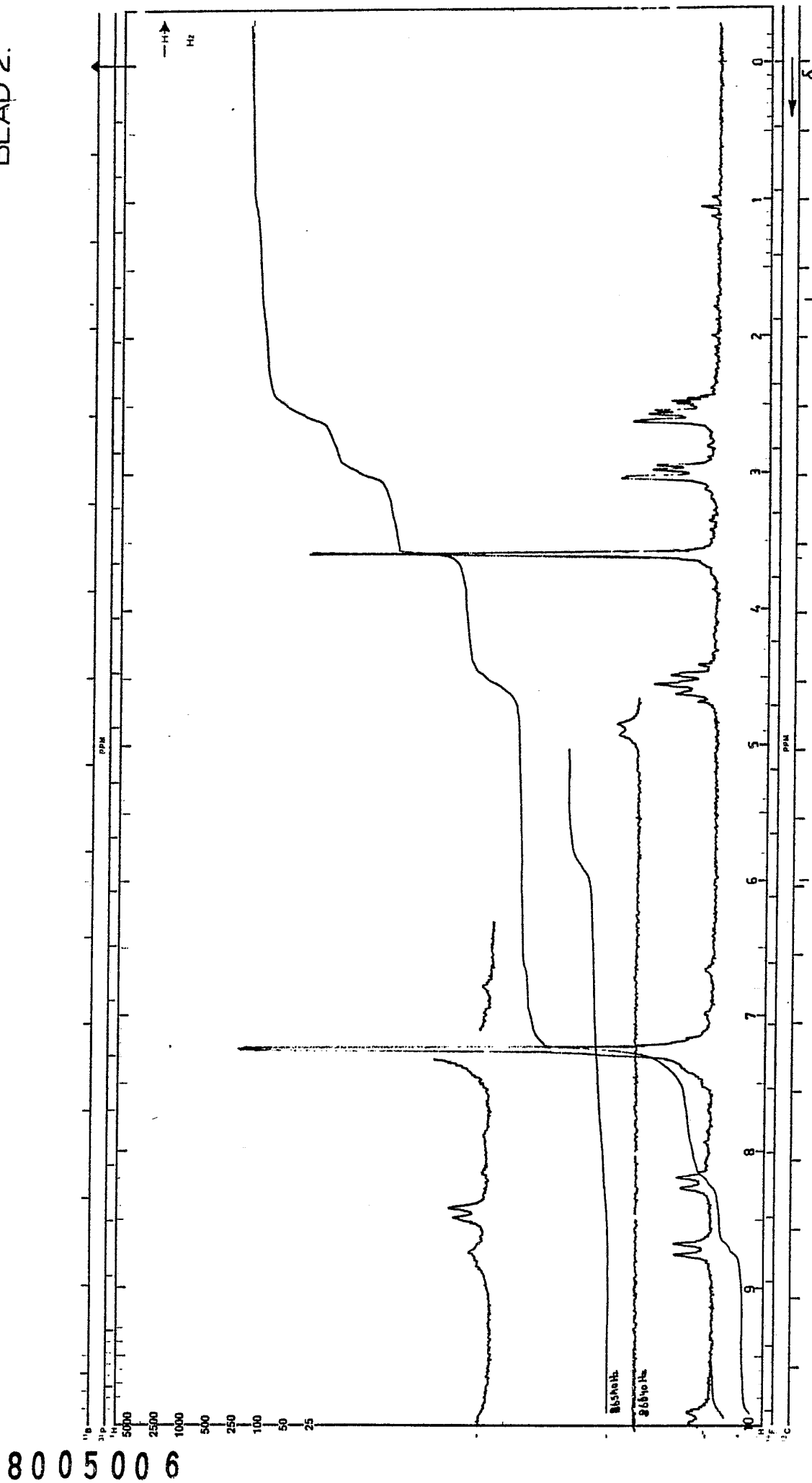


FIG. II.

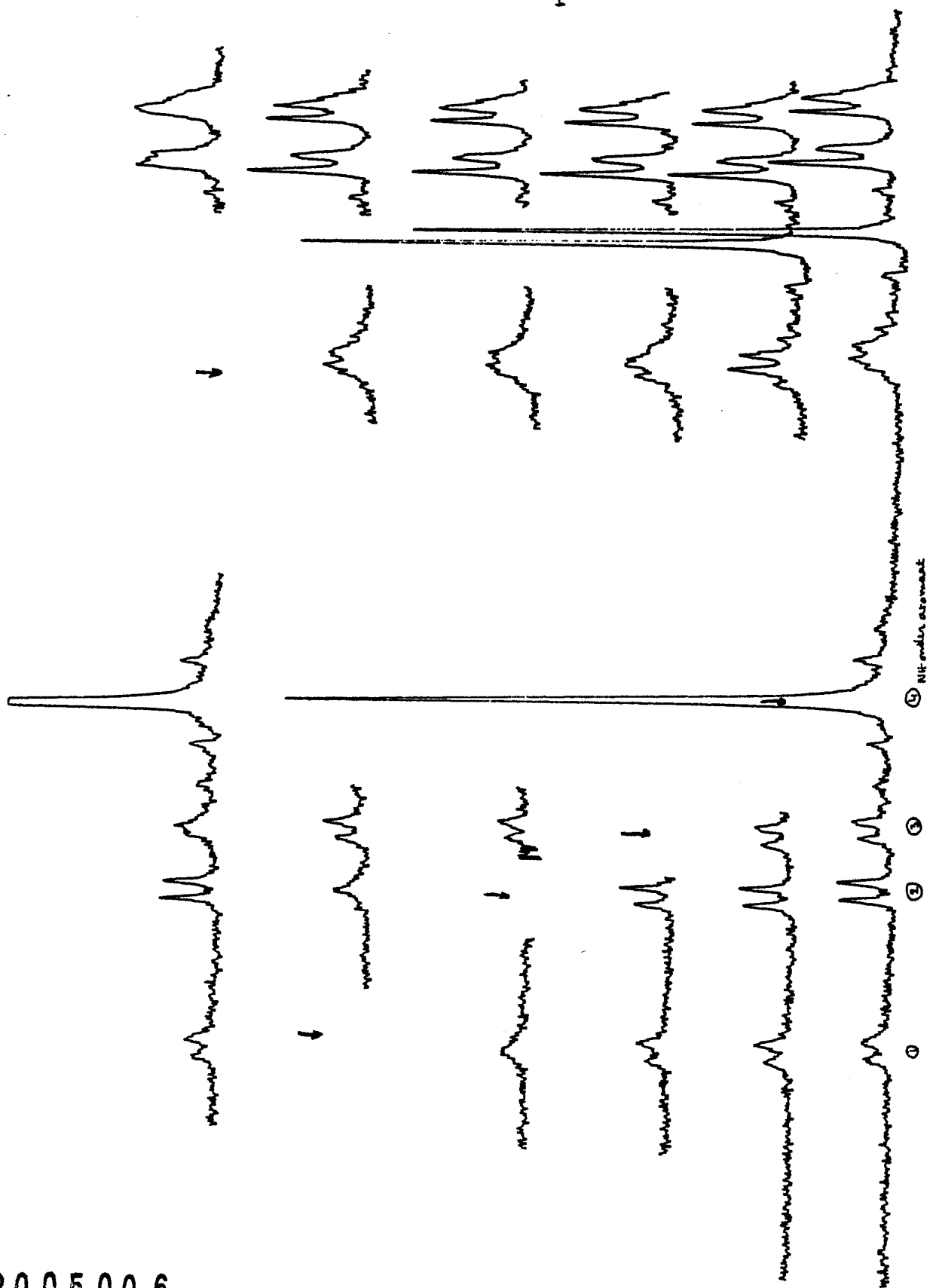


FIG. II.

STAMICARBON B.V.

4 BLADEN
BLAD 4.

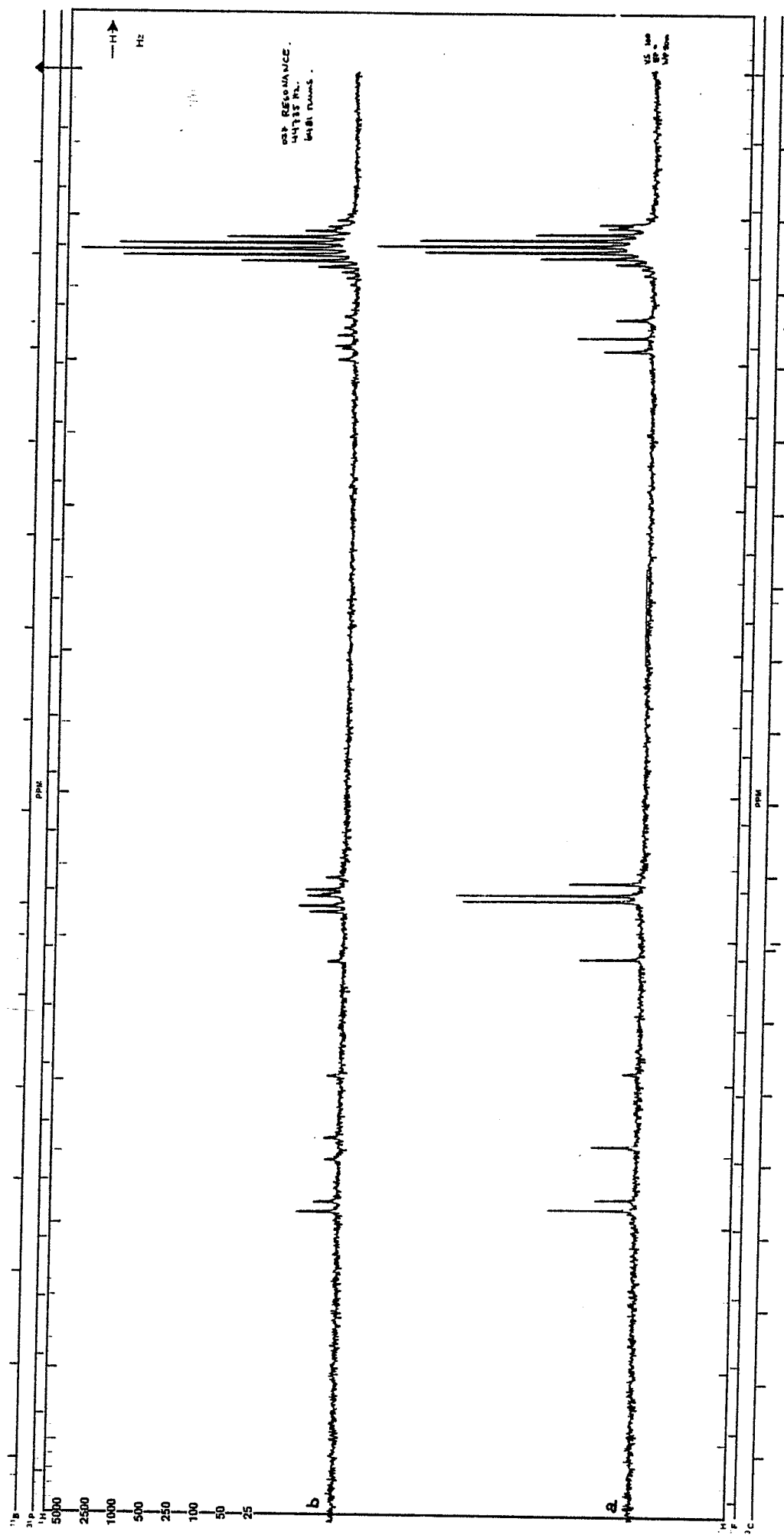


FIG. IV.