



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

231201

(11)

(B1)

(22) Přihlášeno 27 04 78
(21) (PV 2708-78)

(51) Int. Cl.³
C 07 C 101/18

(40)

(45) Vydáno 15 06 86

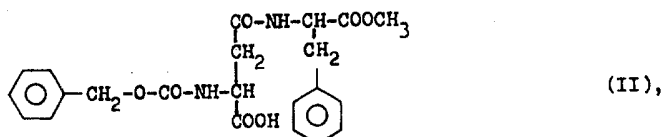
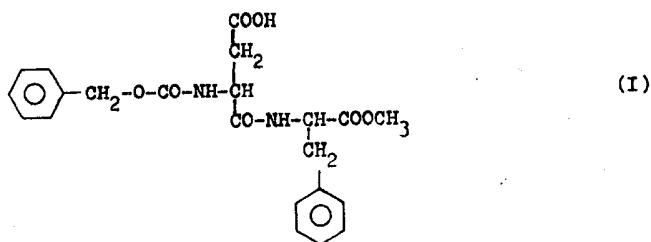
(75)
Autor vynálezu

KÖRBL JIŘÍ ing., JANČIK FEDIR RNDr. CSc., JAKEŠOVÁ LUDMILA ing.,
PRAHA, FERENC MILAN RNDr., MICHALSKÝ JIŘÍ RNDr., HRUBÝ MILAN ing.,
OLOMOUC, NEMEČEK OLDŘICH dr. ing. DrSc., PRAHA

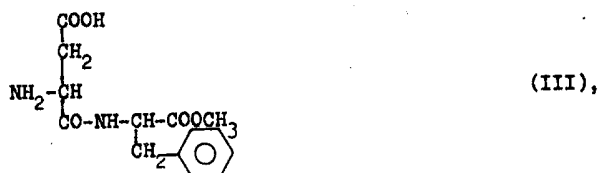
(54) Způsob přípravy methylesteru N-benzyloxykarbonyl-L-aspartyl-L-fenylalaninu

Způsob přípravy metylesteru N-benzyloxykarbonyl-L-aspartyl-L-fenylalaninu reakcí anhydridu kyseliny N-benzyloxykarbonyl-L-asparagové s metylesterem L-fenylalaninu, spočívající v tom, že se na anhydrid N-benzyloxykarbonyl-L-asparagové kyseliny působí roztokem metylesteru L-fenylalaninu v organickém rozpouštědle nemísitelném s vodou, s výhodou v etylacetátu, získaným extrakcí alkalizovaného vodného roztoku odperku surového hydrochloridu metylesteru L-fenylalaninu, připraveného esterifikací L-fenylalaninu metanolem, přičemž množství roztoku potřebného pro reakci se předem analyticky stanoví, například titrací kyselinou chloristou v prostředí kyseliny octové.

Výněle se týká způsobu přípravy metylesteru N-benzyloxykarbonyl-L-aspartyl-L-fenylalaninu, v podstatě směsi alfa- a beta-derivátů vzorců I a II

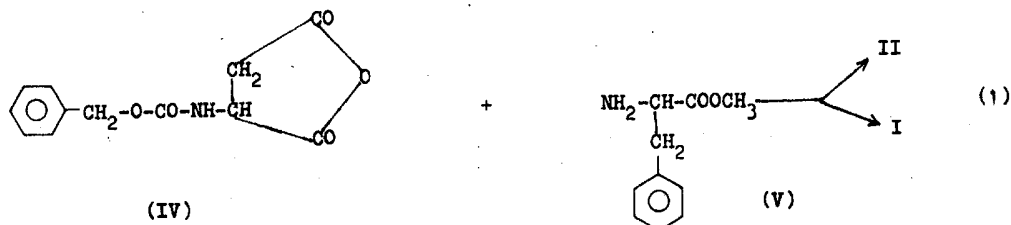


s významnou převahou alfa-derivátu. Tato směs je důležitým meziproduktem výroby metylesteru alfa-L-aspartyl-L-fenylalaninu vzorce III

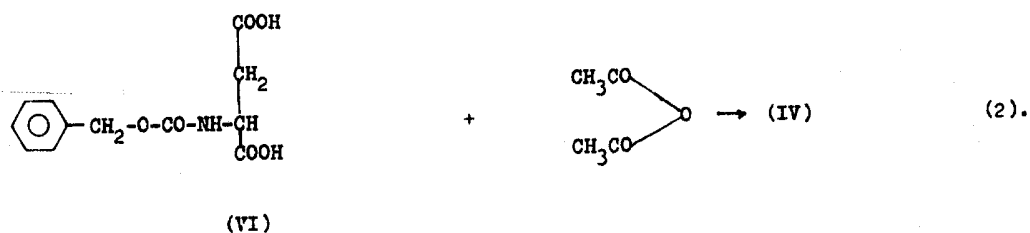


resp. jeho hydrochloridu, který se používá jako umělé sladidlo.

Směs alfa- a beta-derivátů (vzorců I a II) se, jak známo, připravuje výhodně reakcí anhydridu kyseliny N-benzyloxykarbonyl-L-asparagové (vzorce IV) s metylesterem L-fenylalaninu. Z reakčního schématu (1) je evidentní současná tvorba alfa- a beta-derivátů:



Příprava potřebného výchozího anhydridu kyseliny N-benzyloxykarbonyl-L-asparagové vzorce IV z N-benzyloxykarbonyl-L-asparagové kyseliny vzorce VI a acetanhydridu probíhá bez problémů podle reakčního schématu (2):

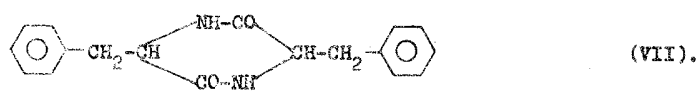


Reakční roztok je možno přímo bez izolace anhydridu vzorce IV použít k reakci s metylesterem L-fenylalaninu vzorce V.

Podle známého postupu se při přípravě výchozího roztoku metylesteru L-fenylalaninu vychází z L-fenylalaninu, který se esterifikuje tak, že se nejprve vytvoří za hlubokého chlazení v přebytku metanolu jeho adukt s thionylchloridem, ke kterému se zvolna, rovněž za stálého chlazení, přidává L-fenylalanin. Reakční směs se zpracuje odpařením a rekrytalizací odparku na hydrochlorid metylesteru L-fenylalaninu, který pro další zpracování musí odpovídat analytickým kritériím, jinak se znovu krystaluje.

Z potřebného množství vyhovujícího hydrochloridu metylesteru L-fenylalaninu se uvolní metylester L-fenylalaninu, který se ve formě etylacetátového roztoku použije pro reakci s anhydridem kyseliny N-benzoyloxykarbonyl-L-asparagové podle schématu (1). Dávkování se tedy řídí vážením hydrochloridu metylesteru L-fenylalaninu vyhovující kvality.

Dále se předpokládá, že během přípravy báze nedojde prakticky ke ztrátám, ať již nedokonalým převedením do etylacetátového extraktu nebo vedlejšími reakcemi, tj. zejména zmýdelněním metylesteru nebo tvorbou dioxopiperazinu vzorce VII



Že tento předpoklad není vždy splněn, vyplývá z kolísavých výtěžků reakce podle schématu (1).

Podstatného zlepšení přípravy metylesteru N-benzoyloxykarbonyl-L-aspartyl-L-fenylalaninu reakcí anhydridu kyseliny N-benzoyloxykarbonyl-L-asparagové s metylesterem L-fenylalaninu bez nutnosti izolace a čištění hydrochloridu metylesteru L-fenylalaninu, bylo dosaženo způsobem podle tohoto vynálezu, jehož podstata spočívá v tom, že se na anhydrid kyseliny N-benzoyloxykarbonyl-L-asparagové působí roztokem metylesteru L-fenylalaninu v organickém rozpouštědle nemísitelném a vodou, s výhodou v etylacetátu, získaným extrakcí alkalizovaného vodného roztoku odparku surového hydrochloridu metylesteru L-fenylalaninu, připraveného esterifikací L-fenylalaninu metanolem, přičemž množství roztoku potřebného pro reakci se předem analyticky stanoví, například titrací kyselinou chloristou v prostředí kyseliny octové.

Jako zdroje metylesteru L-fenylalaninu se účelně používá odparku surového hydrochloridu metylesteru L-fenylalaninu, rezultujícího po esterifikaci L-fenylalaninu metanolem v prostředí metanolickeho roztoku chlorovodíku při teplotě varu reakční směsi a po částečném nebo úplném odpaření těkavých podílů, přičemž se tato operace popřípadě ještě jednou opakuje, aby se dosáhlo úplnější konverze L-fenylalaninu v metylester.

Při provedení způsobu podle vynálezu se zpravidla postupuje tak, že se ze surového odparku nebo ze zahuštěného koncentráту hydrochloridu metylesteru L-fenylalaninu uvolní slabou bází, s výhodou hydrogenuhličitane m sodným, metylester L-fenylalaninu, který se vytřepe do etylacetátu a tento roztok se použije k reakci s anhydridem kyseliny N-benzoyloxykarbonyl-L-asparagové podle schématu (1). Využívá se přitom poznatku, že jak L-fenylalanin, tak i dioxopiperazin zůstávají ve vodné fázi.

Důležitou součástí způsobu podle vynálezu je analytické stanovení obsahu metylesteru L-fenylalaninu v etylacetátovém roztoku, sloužící k určení správného množství potřebného k reakci podle schématu (1). Toto stanovení lze s výhodou uskutečnit titrací vzorku roztoku zředěného kyselinou octovou odměrným roztokem kyseliny chloristé v kyselině octové, s použitím vhodného indikátoru, například krystalové violeti, popřípadě potenciometrického indikačního systému, například dvojice wolframové a uhlíkové elektrody.

Stejným analytickým postupem je možno u starších roztoků kontrolovat, zda nedošlo k poklesu obsahu následkem tvorby dioxopiperazinu, neboť dioxopiperazin se za těchto podmínek netitruje. Analytická kontrola dovoluje realizovat optimální poměr reakčních složek při reakci podle schématu (1), čímž se dosahuje standardních vysokých výtěžků.

Dalšího podstatného zlepšení přípravy metylesteru N-benzyloxykarbonyl-L-aspartyl-L-fenylalaninu bylo dosaženo změnou způsobu esterifikace L-fenylalaninu. Nevýhodou dosa-
vedního postupu, popsaného nahoře, projevují se zejména v provozním měřítku, je nutnost hlubokého chlazení, které je technicky velmi náročné. Jinou nevýhodou jsou exhalace kyslič-
níku siřičitého z použitého thionylchloridu, jejichž likvidace vyžaduje další náročná opatření. Bylo zjištěno, že tento složitý a obtížný způsob je možno obejít za současného zvýšení výtěžku.

Podkladem pro toto významné zlepšení syntézy metylesteru N-benzyloxykarbonyl-L-aspar-
tyl-L-fenylalaninu byla pečlivá studie kinetiky kyselí katalyzované esterifikace L-fenyl-
alaninu metanolem za velkého přebytku metanolu a variabilního množství chlorovodíku, při
teplotě varu směsi. Kinetika byla sledována alkalimetrickou potenciometrickou titrací a
argentometrickou titrací. Současné vyhodnocování obou titrací ukazuje nárůst vznikajícího
metylesteru. Kinetická studie vedla k závěru, že existují technologicky přijatelné podmín-
ky, za kterých vzniká více než 90 % a v optimu více než 95 % teorie žádaného metylesteru,
vedla však také k dalšímu poznatku, že způsob izolace může silně nepříznivě ovlivnit vý-
těžek, takže poklesne na 70 % teorie i níže, byť i reakce proběhla optimálně.

Z těchto poznatků vyplynul způsob přípravy roztoku metylesteru L-fenylalaninu, jenž
se vyhýbá izolaci hydrochloridu a jeho čištění, takže roztok metylesteru je přímo použi-
telný pro další syntézu. To ovšem neznamená, že by příprava substance hydrochloridu metyl-
esteru L-fenylalaninu nebyla možná. Naopak je proti metodě pracující s thionylchloridem
výhodnější.

Bližší podrobnosti způsobu podle vynálezu vyplývají z příkladů provedení, které tento
způsob pouze ilustrují, ale nijak neomezuji.

Příklady provedení

P ř í k l a d 1

Příprava anhydridu kyseliny N-benzyloxykarbonyl-L-asparagové

Do roztoku 76 g kyseliny N-benzyloxykarbonyl-L-asparagové ve 160 ml bezvodého etylace-
tátu, ochlazeného na 5 až 10 °C, se za míchání připustí asi za 30 minut 31,2 ml anhydridu
kyseliny octové. Při uvedené teplotě se reakční směs míchá dalších 30 minut a pak se nechá
v klidu při teplotě místnosti po dobu 30 hodin.

P ř í k l a d 2

Příprava metylesteru L-fenylalaninu

Alternativní postup 1: Do 112 ml metanolu vychlazeného na -15 až -20 °C se opatrně
přikape 25 ml čerstvě předestilovaného thionylchloridu. Rychlost přikapávání se řídí tak,
aby teplota reakční směsi nepřestoupila -5 °C. Po přidání celého množství thionylchloridu
se za stálého míchání a udržování teploty pod -5 °C vnáší do reakční směsi v průběhu asi
30 minut 52 g L-fenylalaninu. Potom se chlazení odstaví a po dosažení teploty 0 °C se
reakční směs zvolna ohřeje na 40 °C a při této teplotě se udržuje 2 hodiny. Po 1 hodině
zahřívání se vytvoří čirý roztok hydrochloridu metylesteru L-fenylalaninu. Po ukončeném
zahřívání se za sníženého tlaku oddestiluje při teplotě lázně 50 až 60 °C nadbytečný meta-
nol (asi 50 ml) s částí nadbytečného chlorovodíku a kysličníku siřičitého.

Pevný odparek hydrochloridu metylesteru L-fenylalaninu se ochladí studenou vodou, za míchání se rozpustí ve 450 ml vody, vodný roztok se převrství 750 ml etylacetátu a do směsi se za intenzivního míchání přidává po částech během asi 30 minut 40 g hydrogenuhlíkatu sodného. Směs se míchá dalších 30 minut a pak se fáze oddělí. Vodná fáze se extrahuje znovu dalšími 250 ml etylacetátu za míchání po dobu 30 minut. Po oddělení se etylacetátové fáze spojí, vysuší 20 g síranu hořečnatého (nejméně 2 hodiny) a zfiltrují. Filtrát obsahuje metylester L-fenylalaninu.

Alternativní postup 2: 52 g L-fenylalaninu se přelije 100 ml metanolu a 100 ml 25% roztoku chlorovodíku v metanolu. Po krátkém zamíchání přejde L-fenylalanin do roztoku. Reakční směs se uvede do mírného varu a za míchání se vaří 3 hodiny. Nadbytečný metanol se pak co nejrychleji oddestiluje za sníženého tlaku. Dále se postupuje jako při alternativním postupu 1. Pro dosažení úplnější konverze je možno odparek znovu rozpustit ve 100 ml metanolu a 100 ml 25% roztoku chlorovodíku v metanolu a ještě jednou zahřívát 3 hodiny k varu, oddestilovat metanol a pak teprve odparek dále zpracovat.

Příklad 3

Stanovení obsahu metylesteru L-fenylalaninu v etylacetátovém roztoku

Pipetuje se 1 ml etylacetátového roztoku metylesteru L-fenylalaninu, získaného alternativním postupem 1 nebo 2 z příkladu 2, přidá se 30 ml bezvodé kyseliny octové a roztok se titruje 0,05 N kyselinou chloristou potenciograficky na wolframovou a uhlíkovou elektrodu. 1 ml 0,05 N kyseliny chloristé odpovídá 8,961 mg metylesteru L-fenylalaninu. Z výsledku se vypočítá množství roztoku potřebné k reakci podle příkladu 4.

Příklad 4

Příprava metylesteru N-benzyl-oxycarbonyl-L-aspartyl-L-fenylalaninu (alfa- a beta-derivátů)

Vypočtené množství etylacetátového roztoku metylesteru L-fenylalaninu (viz příklad 3), odpovídající 51 až 53 g látky, se za míchání v průběhu 3 až 4 hodin přikape do roztoku anhydridu N-benzyl-oxycarbonyl-L-asparagové kyseliny, připraveného podle příkladu 1. Po ukončení přikapávání se směs míchá 30 minut a pak se ponechá v klidu při teplotě místnosti po dobu nejméně 12 hodin. Poté se z reakční směsi oddestiluje za sníženého tlaku při teplotě 55 až 60 °C etylacetát spolu s částí octové kyseliny (asi 750 ml). Do teplého olejovitého odparu se za intenzivního míchání přilije 1 800 ml vody. Směs se míchá 2 hodiny, vyloučený krystalický produkt se odseje, promyje 400 ml vody a vysuší při teplotě nejvýše 60 °C do konstantní hmotnosti. Výtěžek 106 g, tj. 87 % teorie, vztaženo na výchozí N-benzyl-oxycarbonyl-L-asparagovou kyselinu.

Příklad 5

Příprava hydrochloridu metylesteru L-fenylalaninu

Směs 2 g fenylalaninu, 13,7 ml 3,3 N chlorovodíku v metanolu a 30,3 ml metanolu se vaří pod zpětným chladičem 3 hodiny. Roztok se odpaří na rotační odparce do sucha a odparek se vysuší nad tuhým hydroxidem sodným. Získaný hydrochlorid metylesteru L-fenylalaninu (výtěžek 100 % teorie) má teplotu tání 150 až 161 °C a obsah 95,1 % hmot., stanoveno titračně.

1. Způsob přípravy metylesteru N-benzyloxykarbonyl-L-aspartyl-L-fenylalaninu reakcí anhydridu kyseliny N-benzyloxykarbonyl-L-asparagové s metylesterem L-fenylalaninu, vyznačující se tím, že se na anhydrid N-benzyloxykarbonyl-L-asparagové kyseliny působí roztokem metylesteru L-fenylalaninu v organickém rozpouštědle nemísitelném s vodou, s výhodou v etylacetátu, získaným extrakcí sikalizovaného vodného roztoku odparku surového hydrochloridu metylesteru L-fenylalaninu, připraveného esterifikací L-fenylalaninu metanolem, přičemž množství roztoku potřebného pro reakci se předem analyticky stanoví, například titrací kyselinou chloristou v prostředí kyseliny octové.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se používá odparku surového hydrochloridu metylesteru L-fenylalaninu, rezultujícího po esterifikaci L-fenylalaninu metanolem v prostředí metanolickeho roztoku chlorovodíku při teplotě varu reakční směsi a po částečném nebo úplném odpaření těkavých podílů, přičemž se tato operace popřípadě ještě jednou opakuje.