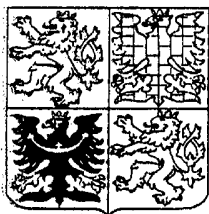


ČESKÁ
REPUBLIKA

(19)



ÚŘAD
PRŮMYSLVÉHO
VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(21) 5460-84

(13) A3

5(51)

C 07 K 5/06

(22) 13.07.84

(32) 07.09.83, 06.02.84

(31) 83/4888, 84/529469

(33) CH, ES

(40) 11.08.93

(71) GEMA S.A., Barcelona, ES

(72) Coll Palomo Alberto, Barcelona, ES;
Castellvi Cabré Juan, Barcelona, ES;
Jackson Barry dr., Visp, CH;

(54) Způsob výroby
L-aspartyl-L-fenylalanin-C1-4-alkylesterů

(57) Způsob výroby L-aspartyl-L-fenylalanin-C1-4-alkylesterů převedením bivalentní soli kyseliny asparagové s chráněnými aminoskupinami na vnitřní anhydrid a jeho reakcí s C1-4-alkylesterem L-fenylalaninu následujícím odštěpením ochranné skupiny za získání konečného produktu, spočívá v tom, že se vychází z bivalentní soli kyseliny asparagové s hydroxidem alkalického kovu, získané v alifatickém C1-C5-alkoholu nebo alifatickém nebo cykloalifatickém, sekundárním nebo terciárním aminu se 2 až 6 atomy uhlíku, načež se aminoskupina za účelem její ochrany uvede in situ v reakci s C8-C20-alkylacetoacetátem obecného vzorce $\text{CH}_3\text{-CO-CH}_2\text{-COOR}$, v němž R znamená alkylový zbytek s 8 až 20 atomy uhlíku, nebo s acetoacetamidem obecného vzorce $\text{CH}_3\text{-CO-CH}_2\text{-COR'NR''}$, v němž R' znamená atom vodíku nebo alkylový zbytek s 1 až 20 atomy uhlíku, a takto vzniklý reakční produkt se reakcí v chloridu alifatické karboxylové kyseliny s 5 nebo 6 atomy uhlíku nebo v chloridu kyseliny benzoové převede na vnitřní anhydrid. Látka se používá jako sladidlo.

Vynález se týká způsobu výroby L-aspartyl-L-fenylalanin- C_1 - C_4 -alkylesterů reakcí bivalentní soli kyseliny asparagové s ochráněnými aminoskupinami s C_1 - C_4 -alkylesterem L-fenylalaninu s následujícím odštěpením ochranné skupiny za získání konečného produktu.

α -L-Aspartyl-L-fenylalanin-methylester byl objeven R.H. Mazurem, J. Am. Chem. Soc. 91(1969) 2684 jako sladidlo. Tento dipeptid vykazuje sladivost, která je 180 až 200krát větší než u sacharózy. Sladivost mají však jen α -L-aspartylové sloučeniny.

β -L-Aspartylové sloučeniny mají hořkou chuť.

Proto byly prováděny různé pokusy o nalezení postupů, které by umožňovaly připravit požadovaný α -L-aspartyl-L-fenylalanin-alkylester v čisté formě při použití L-fenylalanin-alkylesterů a kyseliny L-asparagové.

Tak je z EP-PS/0035047 známo převedení asparagové kyseliny acetylacetonem nebo nižším alkylesterem kyseliny octové za přítomnosti hydroxidu alkalického kovu nebo aminů a hydroxidů alkalických kovů na tak zvanou DANE-sůl a tuto pak v dalším stupni na vnitřní anhydrid a nakonec provedením reakce s fenylalanin-methylesterem na konečný produkt. Nevýhodou této metody je ale 10 až 20 hodin trvající reakční doba pro aktivaci DANE-soli na vnitřní anhydrid. Dalším nedostatkem jsou výtěžky dosahované při této metodě po zpracování a čisticích postupech ve výši 40 až 51 %.

Další postup je popsán v EP-PS/0048545. Podobným postupem jako v EP-PS 0035047 vyrábějí se z nižších alkylesterů kyseliny octové DANE-soli, tyto se nechají reagovat s esterem kyseliny chlormravenčí na směsný anhydrid a nakonec s fenylalanin-methylesterem na konečný produkt. Při této metodě sice mohla být zkrácena reakční doba pro aktivaci, nevýhodné a neuspoko-

jivé je ale vedle používání velmi nízkých reakčních teplot od -30 do -70 °C, zpracování a čištění, které je možné jen technicky nevýhodnou sloupcovou chromatografií.

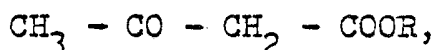
Úlohou předloženého vynálezu je navrhnout způsob výroby α -L-aspartyl-L-fenylalanin-alkylesterů, který by ve srovnání se současným stavem techniky umožnil získat α -L-aspartyl-L-fenylalanin-alkylester za krátkou dobu jednoduchým postupem proveditelným v technickém měřítku, v dobrém výtěžku a vysoké čistotě.

~~Podle bodu 1 přednášky vynálezu bylo toho dosaženo tak, že L-asparagová kyselina vytvoří s alkoholickým hydroxidem alkalického kovu nebo s vnitřním aminem odpovídající bivalentní solí asparagové kyseliny, volná aminoskupina soli se in situ chrání alkylacetoacetátem obecného vzorce $\text{CH}_3\text{-CO-CH}_2\text{-COOR}$, kde R znamená alkylový zbytek o 8 až 20 atomech uhlíku, nebo acetoacetamidem obecného vzorce $\text{CH}_3\text{-CO-CH}_2\text{-CONR'R''}$, kde R' znamená vodík nebo alkylový zbytek s 1 až 20 atomy uhlíku a R'' alkylový zbytek s 1 až 20 atomy uhlíku a tyto reakční produkty se izolují a konečně se v nepolárním rozpouštědle převedou působením chloridu kyseliny na anhydrid, který se reakcí s L-fenylalanin-alkylesterem převede na konečný produkt.~~

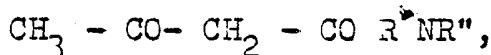
~~Tvorba bivalentních solí kyseliny asparagové se podle vynálezu provádí reakcí s organickým aminem nebo hydroxidem alkalického kovu.~~

Předmětem tohoto vynálezu je způsob výroby L-aspartyl-L-fenylalanin- C_1-C_4 -alkylesterů reakcí bivalentní soli kyseliny asparagové s chráněnými aminoskupinami s C_1-C_4 -alkylesterem L-fenylalaninu s následujícím odštěpením ochranné skupiny za získání konečného produktu.

Podstata vynálezu je v tom, že se bivalentní sůl kyseliny asparagové s alkalickým hydroxidem vytváří v alifatickém C_1-C_5 -alkoholu nebo alifatickém nebo cykloalifatickém, sekundárním nebo terciárním aminu s 2 až 6 atomy uhlíku, načež se aminoskupina za účelem její ochrany uvede in situ v reakci s C_8-C_{20} -alkylacetoacetátem obecného vzorce



v němž R znamená alkylový zbytek s 8 až 20 atomy uhlíku, nebo s acetoamidem obecného vzorce



v němž R' znamená atom vodíku nebo alkylový zbytek s 1 až 20 atomy uhlíku a R'' znamená alkylový zbytek s 1 až 20 atomy uhlíku,

a takto vzniklý reakční produkt se reakcí v chloridu alifatické karbové kyseliny s 5 nebo 6 atomy uhlíku nebo v chloridu ^{benzoin} ~~aromatické karbové kyseliny~~ převede na vnitřní anhydrid.

Používá se s výhodou alkylacetátu s přímým nebo rozvětveným alkylovým zbytkem s 8 až 20 atomy uhlíku, především s 8 až 12 atomy uhlíku.

"kyseliny" →
PLATI

Množství alkylacetoacetátu činí 0,7 až 2,5 mol, s výhodou 0,9 až 2,1 mol, na 1 mol vsazené kyseliny asparagové.

Používá se acetoamidu, jehož aminoskupina je jednou nebo dvakrát substituována alkylovými zbytky, přímými nebo rozvětvenými, obsahujícími 2 až 12 atomů uhlíku.

Acetamidu se používá v množstvích 0,7 až 2,5 mol, s výhodou 0,9 až 2,1 mol, na 1 mol vsazené kyseliny asparagové.

K tvorbě vnitřního anhydridu se používá chloridu kyseliny pivalové v množstvích 0,5 až 2,0 mol, vztaženo na 1 mol reakčního produktu s chráněnými aminoskupinami.

Jako organického aminu se používá účelně sekundárního a terciárního aminu, s výhodou terciárního aminu, v množstvích 1 až 3,5 mol, s výhodou 1,8 až 3,0 mol, jako diethylaminu a zejména triethylaminu.

V případě, kdy se používá reakčního produktu s chráněnými amino skupinami ve formě diamonné soli, převede se diamonná sůl působením alkalického hydroxidu na dialkalickou sůl.

Jako alkalického hydroxidu se používá hydroxidu lithného, sodného nebo draselného, s výhodou draselného, v množstvích 1,6 až 2,5 mol, s výhodou 1,7 až 2,1 mol, na 1 mol kyseliny asparagové.

Reakci, při které vzniká sůl, je výhodné provádět v alkoholech s 1 až 5 atomy uhlíku, jako je methanol, ethanol, propanol, butanol, pentanol, s výhodou v methanolu.

Jako organické aminy se výhodně používají terciární a sekundární aminy, jako například diethylamin nebo triethylamin, zejména triethylamin.

Jako hydroxidy alkalických kovů se výhodně používají hydroxid lithný, sodný nebo draselný, zejména hydroxid draselný.

Reakci, při které vzniká sůl, je výhodné provádět v alkoholickém mediu, které obsahuje methanol, ethanol nebo jiné nižší alkoholy.

Dále je třeba pro pozdější tvorbu dipeptidu ochrana aminoskupiny L-asparaginsové kyseliny. Podle ^{předloženého návrhu} ~~předloženého vynálezu~~ se tato provádí in situ po vytvoření bivalentních solí s organickou ~~kys~~ sloučeninou, která se snadno naváže na aminoskupinu, ale kterou je možno po kondenzačním stupni s L-fenylalanin-alkylesterem snadno, například změnou hodnoty pH, opět odštepit. K takovým sloučeninám patří alkylacetoacetáty obecného vzorce $\text{CH}_3\text{-CO-CH}_2\text{-COOR}$, kde má R význam alkylu s 8 až 20 atomy uhlíku. Zvláště výhodnými sloučeninami jsou oktylacetoacetát, dodecylacetoacetát, tetradecylacetoacetát, hexadecylacetoacetát nebo oktaedecylacetoacetát.

K tomuto účelu je rovněž možno použít acetoacetamidy obecného vzorce $\text{CH}_3\text{-CO-CH}_2\text{-CONR'R''}$, kde R' znamená vodík nebo alkylový zbytek s 1 až 20 atomy uhlíku a R'' znamená alkylový zbytek s 1 až 20 atomy uhlíku. Zvláště výhodnými sloučeninami jsou diethylamid kyseliny acetoctové a dodecylamid kyseliny acetoctové.

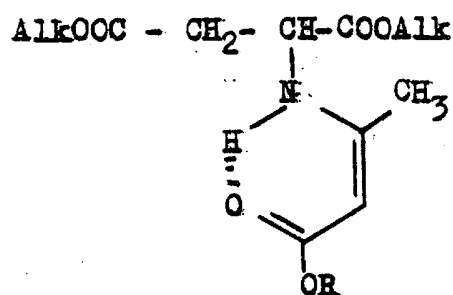
Takto se připraví bivalentní soli kyseliny L-asparagové s chráněnými amineskupinami, které se rovněž nazývají DANE-soli.

Reakce NH_2 -skupiny kyseliny asparagové s vyššími alkylacetoacetáty nebo acetoacetamidy se výhodně provádí v organických rozpouštědlech, výhodně v nižších alkoholech.

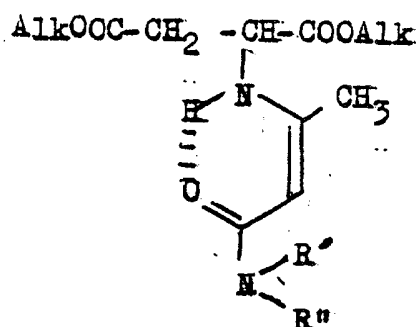
Při reakci kyseliny asparagové (~~podle bodu 1~~) s organickými aminy a potom s alkylacetoacetáty nebo acetoacetamidy podle vynálezu, se tvoří di-amoniové-DANE-soli přes di-amoniové soli kyseliny asparagové. Tyto je vhodné před další reakcí převést podle dříve uvedených postupů reakcí s hydroxidem alkalického kovu na di-alkalické-DANE-soli.

Proti přímé přípravě di-alkalických-DANE-solí reakcí kyseliny asparagové s hydroxidem alkalického kovu a další reakcí podle vynálezu s alkylacetoacetátem nebo acetoacetamidem má uvedená metoda tu přednost, že je zabráněno nebezpečí reesterifikace alkoholem přítomným v reakčním mediu.

Tyto DANE-soli obecných vzorců



kde Alk znamená atom lithia, sodíku nebo draslíku a R alkyl-
vý zbytek přímý nebo rozvětvený s 8 až 20 atomy uhlíku a



kde Alk znamená atom lithia, sodíku nebo draslíku, R' znamená
vodík nebo přímý nebo rozvětvený alkylvý zbytek s 1 až 20
atomy uhlíku a R'' přímý nebo rozvětvený alkylvý zbytek s 1
až 20 atomy uhlíku,

mohou být běžným způsobem, například filtrací izelovány, nebo
dále použity in situ po záměně polárního rozpouštědla za nepo-
lární.

Pro vytvoření peptidové vazby se karboxylová skupina DANE-
soli částečně neutralizuje anorganickou nebo organickou kyse-
linou, jako například kyselinou chlorovodíkovou, sírovou, du-
sičnou, octovou, mravenčí, trifluoroctovou samotnou nebo spolu
s amidem jako je N,N-dimethylformamid, acetamid a N,N-dimethyl-
acetamid jako amidová sůl nebo spolu s aminem jako je pyridin.

Tato částečně neutralizovaná DANE-sůl se pak nechá reago-
vat za přítomnosti 4-pikolinu jako katalyzátoru s chloridem or-

ganické kyseliny, jako je chlorid kyseliny hexanové, pentanové, nebo benzoylchlorid, výhodně s pivaloylchloridem, na anhydrid. Tento dále pak reaguje s aminoskupinou L-fenylalaninalkylesteru.

Tento anhydrid nakonec reaguje s alkylesterem L-fenylalaninu.

Jako alkylestery fenylalaninu přicházejí v úvahu výhodně alkylestery s 1 až 4 atomy uhlíku, výhodně methylester.

Reakce DANE-solí na směsný anhydrid a kondenzační reakce se provádí podle vynálezu v nepolárním rozpouštědle. Výhodně se používají chloralkany, jako je methylenchlorid a chloroform, výhodně methylenchlorid.

Za účelem získání požadovaného α -L-aspartyl-L-fenylalanin-alkylesteru se reakční směs okyselí, čímž se vyloučí α -produkt jako pevná sůl příslušné kyseliny v dobrém výtěžku a může být přímo oddělen.

Podle vynálezu tak umožňují DANE-solí vzniklé z alkylacetoacetátů s dlouhým řetězcem nebo z acetoacetamidů jednoduchý postup proveditelný v technickém měřítku, který poskytuje

α -L-aspartyl-L-fenylalanin-alkylester v nepolárním rozpouštědle za kratší reakční dobu. Další zpracování je zbytečné, neboť požadovaný α -produkt se v nepolárním rozpouštědle vyloučí přidávkou kyseliny ve vysoké čistotě a v dobrém výtěžku.

Výhodně se způsob podle vynálezu provádí tak, že se nechá

Kyselina L-asparagová reagovat s organickým aminem v množství od 1,0 do 3,5 mol na mol, výhodně 1,8 až 3,0 mol kyseliny asparagové, v alkoholickém mediu za vzniku di-amoniové soli kyseliny asparagové. Pak je možno přidat pro přípravu DANE-soli alkylacetoacetát nebo acetoacetamid.

V případě alkylacetoacetátu se používá 0,7 až 2,5 mol, výhodně 0,9 až 2,1 mol na mol kyseliny asparagové.

V případě acetoacetamidu se používá 0,7 až 2,5 mol, výhodně 0,9 až 2,1 mol na mol kyseliny asparagové.

Reakce se výhodně provádí při teplotách mezi 0 a 60 °C, zejména mezi 10 a 30 °C a během 5 až 25 hodin.

Výhodně se za přídavku hydroxidu alkalického kovu v množství 1,6 až 2,5 mol, zvláště 1,7 až 2,1 mol, k reakčnímu roztoku získá di-alkalická-DANE-sůl.

DANE-sůl může být izolována nebo použita in situ v dalším reakčním stupni.

K částečné neutralizaci karboxylových skupin se používají anorganické nebo organické kyseliny samotné nebo ve spojení s amidy jako amidové sole nebo ve spojení s aminy, v množství od 0,8 do 1,2 mol, výhodně 0,95 až 1,2 mol na mol DANE-soli.

Za přítomnosti výhodně 0,03 až 0,05 mol, zvláště 0,035 až 0,045 mol 4-pikolinu na mol DANE-sole vznikne s 0,5 až 2,0 mol, zvláště s 0,8 až 1,2 mol pivaloylchloridu na mol DANE-soli anhydrid.

Aktivace, tj. doba pro částečnou neutralizaci a vytvoření směsného anhydridu je výhodně 15 až 200 minut, zejména 30 až 100 minut. Anhydrid vytváří předpoklad pro vznik peptidové vazby s fenylalaninalkylesterem, který se přidává v množství výhodně od 0,4 do 1,2 mol, zejména 0,6 až 1,0 mol.

Reakce DANE-soli na konečný produkt se provádí v nepolárním rozpouštědle, jako je chloroform a methylenchlorid, výhodně v methylenchloridu.

Pracuje se při teplotách mezi -25 až +25 °C, výhodně mezi -15 až +5 °C.

K získání α -L-aspartyl-L-fenylalanin-methylesteru se pH reakční směsi sníží přidavkem například kyseliny chlorovodíkové na -1 až +4, přičemž se vyloučí α -produkt jako sůl a může být oddělen filtrací.

Při tomto postupu se získá α -L-aspartyl-L-fenylalanin-alkylesterová sůl ve výtěžcích, které se obvykle pohybují mezi 60 až 80 %.

Produkty získané postupem podle vynálezu jsou hydrochloridy se dvěma krystalickými vodami.

Následující příklady blíže objasňují postup podle vynálezu při výrobě α -L-aspartyl-L-fenylalanin-methylesterhydrochlorid-dihydrátu.

Příklad 1

di-draselná soli
Příprava /S/-N-/1-methyl-2-dodecyloxykarbonylvinyl/-asparagové
~~kyseliny di-draselné soli~~ /DANE-DD-2K/

Roztok 66,6 g /S/-asparagové kyseliny /0,50 mol/ a 125 ml triethylaminu /0,90 mol/ v 500 ml methanolu se připraví při 20 °C, pak se přidá 273 g dodecylesteru kyseliny acetoctové /1,00 mol/ a roztok se míchá přes noc při 10 °C. Roztok se pak ochladí na 0 °C a přidá se 63,5 g peciček hydroxidu draselného /0,97 mol/. Přidávání se provádí pomalu, takže se teplota udržuje při 0 °C. Světležlutý roztok se pak míchá dalších 60 minut. Roztok DANE-soli se pak během 30 minut přikape do 3500 ml acetonu a vzniklá suspenze se míchá 30 minut, pak se odfiltruje, promyje 500 ml acetonu a suší 24 hodin ve vakuu / až 13,3 Pa/ při 40 °C. Získá se tak 212,2 g DANE-soli.

Výtěžek činí 90,4 % vztaženo na kyselinu asparagovou.
NMR produktu /CD₃OD/ δ v ppm: 0,89, triplet, 3H: J=7 /CH₃-alkyl/, 1,31, široký singlet, 18H /9 x CH₂/. 1,57, triplet, 2H, J=7, /CH₂-alkyl/. 1,94, singlet, 3H /CH₃-vinyl/, 2,65, kvartet, 1H, J=17,5, 2,75, kvartet, 1H, J=17,7, 3,96, triplet, 2H, J=7 /-CH₂-O/, 4,21, kvartet, 1H, J= 7,5.

Příklad 2

Příprava di-draselné soli kyseliny /S/-N-/1-methyl-2-oktyloxykarbonylvinyl/asparagové ~~kyseliny~~ /DANE-Oc-2K/

Podle příkladu 1 se nechá 217 g oktylesteru acetoctové ky-

seliny /1,00 mol/ se 66,6 g kyseliny asparagové /0,50 mol/ a 125 ml triethylaminu /0,90 mol/ reagovat v 500 ml methanolu. Reakční roztok se pak zpracuje při 0 °C 65,0 g hydroxidu draselného /1,00 mol/ a DANE-sůl se jako methanolickeý roztok přika-pe do 3000 ml acetonu, izolace se provede filtrací. Produkt se suší ve vakuu /ež 13,3 Pa/ 24 hodin při 45 °C, získá se 181,8 g DANE-soli.

Výtěžek činí 88,1 % vztažene na kyselinu asparagovou. NMR produktu /CD₃OD/ δ v ppm: 0,89, triplet, 3H, J=7 /CH₃-alkyl/; 1,32, široký singlet, /5 x CH₂/; 1,58, triplet, 2H, J=7 /CH₂-alkyl/; 1,95, singlet, 3H /CH₃-vinyl/; 2,63, kvartet, 1H, J=17; 2,78, kvartet, 1H, J=17,7; 3,96, triplet, 2H, J=7 /-CH₂-O-/; 4,18, kvartet, 1H, J=7, /vinyl-CH/; 4,38, singlet a -NH 9,10, dublet.

Příklad 3

Příprava di-draselné soli kyseliny /S/-N-/1-methyl-2-diethyl-aminekarbenylvinyl/asparagové

13,1 g hydroxidu draselného /0,20 mol/ se rozpustí v 80 ml methanolu a pak se přidá 13,35 g kyseliny asparagové /0,10 mol/ a směs se zahřívá na 60 °C. Při 60 °C se přidá 17,0 g diethylamidu kyseliny acetoctové /0,107 mol/ a roztok se udržuje 1 hodinu při 60 °C a pak se ochladí na 20 °C. Tento roztok se

odpaří dosucha a zbytek se převede do 400 ml acetonu a míchá se 1 hodinu při 20 °C. Produkt se odfiltruje a suší 24 hodin při 25 °C za sníženého tlaku / 1600 Pa/, získá se 32,55 g DANE-soli.

Výtěžek činí 90,9 % vztaženo na kyselinu asparagovou. NMR produktu /CD₃OD/ δ v ppm: 1,11, triplet, 6H, J=7 /CH₃-alkyl/; 1,94, singlet, 3H /CH₃-vinyl/; 2,62, kvartet, 1H, J=17; 3,31, komplex, xH /CH₂-alkyl + CH₃OD/; 4,14, široký triplet, 1H, J ca. 7.

Příklady 4 až 9 dokládají přípravu dalších DANE-solí podle příkladů 1 a 2, mění se v nich pouze parametry, amin pro vytvoření bivalentních solí, acetoacetát nebo amid pro chránicí skupinu aminoskupiny a hydroxid alkalického kovu pro vznik dialkalické DANE-soli-

př.	amin pro vznik DANE-solí	acetoacetát nebo amid	hydroxid alk.kovu	reakční doba	výtěžek, vztažený na kyselinu asparagovou
4	tetramethyl-propylendiamin	oktylacetoacetát	NaOH	16 h	79 %
5	diethylamin	oktylacetoacetát	NaOH	22 h	85 %
6	diazobicyklo- /5,4,0/undec- 7en	dodecylacetoacetát	NaOH	22 h	83 %
7	N',N'-N'-tetramethyl-guanidin	hexadecylacetoacetát	KOH	19 h	91 %

8	triethylamin	cyklohexylamid	NaOH	22h	92 %
9	triethylamin	acetoctové kys. ektadecylaceto- acetát	LiOH	6 h	75 %

Příklad 10

Aspartam-hydrochlorid z DANE-soli; di-draselná sůl /S/-N-/1-methyl-2-dodecyloxykarbonylvinylo/asparagové kyseliny /DANE-DD-2K/

14,13 g DANE-soli 97,5% se suspenduje při +5 °C ve 200 ml methylenchloridu. K této suspenzi se pro částečnou neutralizaci přidá 3,72 g dimethylacetamid-hydrochloridu 99,7% /0,030 mol/ a smyje se 5 ml methylenchloridu. Roztok se míchá při -10 °C 15 minut. Pak se přidá 0,15 g 4-pikolinu /0,00115 mol/ a 3,3 g pivaloylchloridu 99% /0,027 mol/ s 5 ml methylenchloridu a míchá se 60 minut při -10 °C.

K tomuto čirému roztoku se přidá 3,65 g L-fenylalanin-methylesteru 98,3% /0,020 mol/ rozpuštěného ve 25 ml methylenchloridu. Tento roztok se přikape během 20 minut. Roztok se míchá 1 hodinu při -10 °C.

Pak se přidá 21 ml 1N kyseliny chlorovodíkové /0,021 mol/, po dalších 5 minutách 2 ml konc. kyseliny chlorovodíkové /0,020 mol/ a po dalších 5 minutách 2,5 ml 4N hydroxidu sodného, hodnota pH se upraví na 0,09.

Směs se míchá 2 hodiny při +1 °C, odsaje se na nuči, pevný produkt se rozmíchá ve 200 ml hexanu, pak se odsaje na nuči

a suší při 30 °C za vakua / 2666 Pa/ 15 hodin. Vztaženo na 100% čistý produkt se získá 4,80 g = 65,4 % α -aspartam.HCl. 2 H₂O, počítáno na L-fenylalanin-methylester.

Vodná fáze ještě obsahuje 2,5 % α -aspartam.HCl.2H₂O, vztaženo na L-fenylalanin-methylester.

Příklad 11

Aspartam-hydrochlorid z DANE-soli; *oli-draselná sůl kyseliny*
karbonylvinylyl/-asparagové ~~kyseliny-di-draselné soli~~
/DANE-OC-2K/

11,35 g DANE-soli 93% /0,026 mol/ se suspenduje při 20 °C ve 100 ml methylenchloridu. K této suspenzi se přidá za účelem částečné neutralizace 3,22 g dimethylamid-hydrochloridu 100% /0,026 mol/ a spláchne se 2 ml methylenchloridu. Suspenze se ochladí na -10 °C a míchá se 10 minut. Pak se přidá 0,17 g 4-pikolinu 100% /0,0013 mol/ a 3,0 g pivaloylchloridu 99% /0,025 mol/, spláchne se 3 ml methylenchloridu a míchá se 60 minut při -10 °C. K čirému roztoku se přidají 3,65 g L-fenylalanin-methylesteru 99,8% /0,020 mol/ rozpuštěného ve 25 ml methylenchloridu. Přidává se po kapkách během 15 minut.

Reakční směs se míchá 45 minut při -10 °C. Pak se přidá 21 ml 1N kyseliny chlorovodíkové /0,021 mol/, po dalších 3 minutách 2,5 ml konc. kyseliny chlorovodíkové /0,025 mol/ a po dalších 4 minutách 3 ml 4N hydroxidu sodného, hodnota pH se upraví na 0,05.

Směs se míchá 60 minut při 0 °C, odsaje se na nuči, pevný produkt se rozmíchá ve 250 ml hexanu a suší se při 30 °C za vakua /2666 Pa/ 15 hodin.

Vztaženo na 100% čistý produkt se získá 4,60 g = 62,7 % α -aspartamu.HCl.2H₂O, vztaženo na L-fenylalanin-methylester.

Z matečných lounů je možno získat ještě 3,4 % α -aspartamu.HCl.2H₂O, vztaženo na L-fenylalanin-methylester.

Příklad 12

Aspartam-hydrochlorid z DANE-soli; di-draselná sůl kyseliny /S/-N-/1-methyl-2-dimethylaminokarbonylviny/ asparagové

14,35 g DANE-soli 96,9% /0,040 mol/ se suspenduje při 20 °C ve 150 ml methylenchloridu. K této suspenzi se za účelem částečné neutralizace přidá 4,96 g dimethylacetamid.hydrochloridu /0,020 mol/ a spláchne se 2 ml methylenchloridu. Roztok se ochladí na -10 °C a míchá se 12 minut. Pak se přidá 0,17 g 4-pikolin.HCl 100% /0,013 mol/ a 3,66 g pivaloylchloridu 99% /0,030 mol/, spláchne se 2 ml methylenchloridu a 45 minut se míchá při -10 °C. K tomuto roztoku se během 15 minut přikape 3,65 g L-fenylalanin-methylesteru 99,8 % /0,020 mol/ ve 25 ml methylenchloridu. Reakční směs se míchá 60 minut při -10 °C.

Pak se přidá 21 ml 1N kyseliny chlorovodíkové /0,021 mol/, po dalších 3 minutách 4,2 ml konc. kyseliny chlorovodíkové /0,042 mol/ a pak 3 ml 4N hydroxidu sodného, hodnota pH se tak upraví na 0,12.

Směs se míchá 90 minut při $+1/+2$ °C, odsaje se na nuči, pevný produkt se rozmíchá ve 200 ml n-hexanu, odfiltruje a suší 15 hodin při 30 °C za vakua /2666 Pa/. Vztaženo na 100% čistý produkt se získá 3,35 g = 45,7 % α -aspartamu.HCl.2H₂O, vztaženo na L-fenylalanin-methylester.

Z matečného louhu je možno ještě získat 3,5 % α -aspartamu.HCl.2H₂O, vztaženo na L-fenylalanin-methylester.

Příklad 13

Aspartam-hydrochlorid z DANE-soli; di-sodná sůl kyseliny /S/-N-/1-methyl-2-oktyloxykarbonylvinylo/asparagové /DANE-Oc₂Na/

8,29 g DANE-soli /0,019 mol/ se suspenduje při $+20$ °C až 22 °C ve 45 ml methylenchloridu. K této suspenzi se při -10 až -15 °C přidá 2,57 g pyridinu.hydrochloridu /0,022 mol/ a ponechá se ještě 15 minut. Pak se přidá 2 ml 1% roztoku 4-pikolin-hydrochloridu a 2,44 g pivaloylchloridu /0,02 mol/, spláchne se 6 ml methylenchloridu a míchá se 15 minut při 0 až 2 °C. K tomuto čirému roztoku se během 1 až 2 minut přikape 2,52 g L-fenylalanin-methylesteru 98% /0,014 mol/ rozpuštěného ve 14 ml methylenchloridu. Reakční směs se míchá 30 minut při 0 až -5 °C.

Pak se přidá 34 ml 1N kyseliny chlorovodíkové a za dalších 3 minuty 3,91 ml kone. kyseliny chlorovodíkové. Směs se míchá

60 minut při 0 °C, odsaje se na nuči, pevný produkt se rozmíchá ve 200 ml n-hexanu a suší 15 hodin při 30 °C za vakua /2666 Pa/.

Vztaženo na 100% čistý produkt se získá 3,95 g = 76,3 % α -aspartamu.HCl.2H₂O, počítáno na L-fenylalanin-methylester.

Příklad 14

Aspartam-hydrochlorid z DANE-soli; di-sodná sůl kyseliny /S/-N-/1-methyl-2-isooktyloxykarbenylvinyl/asparagové /DANE-isocc-2Na/

8,35 g DANE-soli /0,019 mol/ se suspenduje při +20 až 22 °C ve 45 ml methylenchloridu. K této suspenzi se při -10 až -15 °C přidá 2,74 g dimethylacetamidu-hydrochloridu /0,022 mol/ a ponechá se ještě 10 minut. Pak se přidají 2 ml 1% roztoku 4-pikolin-HCl a 2,44 g pivaloylchloridu /0,02 mol/, spláchnou se 6 ml methylenchloridu a míchá se při 0 až 5 °C 30 minut. K čirému roztoku se během 1 až 2 minut přidá 2,52 g 98% L-fenylalanin-methylesteru /0,014 mol/ rozpustěného ve 14 ml methylenchloridu. Reakční směs se míchá 45 minut při 0 až 5 °C.

Hydrolyza se pak provede postupem podle příkladu 13. Po filtraci a sušení se získá 3,72 g = 72,7 % . vztaženo na 100% produkt, α -aspartamu.HCl.2H₂O, počítáno na L-fenylalanin-methylester.

Podle příkladů 11 a 12 ale s jinými podmínkami se provedou příklady 15 až 29.

Př.	výchozí	částečná neutrali-	aktivace	reakční	reakce s fenyl-	výtěžek	
	DANE-sůl	záce		dobu pro	alanin-methyleste-	reagující	
	0,019 mol	amid		pol.neutra-	rem (0,015 mol)	na L-fenyl-	
		0,022 mol		lizaci a ek-	reakční teplota	alanin-benzyl-	
				tivaci		ester	
15	DANE-Oc-2Na	DIMAC	H ₂ SO ₄	podle př. 11	80 min	-10 až 12 °C	75,0 %
16	"	MAC	H ₂ SO ₄	"	75 min	0 °C	68,5 %
17	"	---	H ₂ SO ₄	"	200 min	-10 až 12 °C	68,0 %
18	"	TMH	H ₂ SO ₄	"	105 min	-10 až 12 °C	78,0 %
19	"	DMF	H ₂ SO ₄	"	80 min	0 až 5 °C	73,0 %
20	"	DIMAC	HNO ₃	"	120 min	0 až 5 °C	70,0 %
21	"	DIMAC	CF ₃ COOH	"	80 min	0 až 5 °C	48,0 %
22	"	DIMAC	CF ₃ SO ₃ H	"	75 min	-10 až 12 °C	60,0 %
23	"	DIMAC	CCl ₂ COOH	"	65 min	0 až 5 °C	60,0 %
24	"	DIMAC	HCl	"	120 min	-10 až -15 °C	69,0 %
25	"	DMF	HCl	"	90 min	-10 až -12 °C	72,0 %
26	"	AC	HCl	"	80 min	0 až -2 °C	69,0 %
27	DANE-DD-2K	DIMAC	HCl	"	70 min	0 až 5 °C	65,0 %
28	DANE-HD-2Na (hexacycl)	DIMAC	HCl	"	45 min	0 až 5 °C	57,0 %
29	DANE-TD-2K	DIMAC	HCl	"	70 min	0 až 2 °C	64,0 %

AC=acetamid/DIMAC= N,N'-dimethylacetamid/DMF= N,N'-dimethylformamid/MAC= N-methylacetamid/TEH= N,N,N',N'-tetramethylmočovina.

Čistota a výtěžky cílového produktu připraveného podle příkladů 10 až 29 jsou uvedeny v následující tabulce:

Příklad	Výtěžek %	Obsah %	Výtěžek vztažený na 100 % čistého produktu %
10	71,1	92,0	65,4
11	68,5	91,5	62,7
12	50,1	91,2	45,7
13	83,2	91,7	76,3
14	80,1	90,8	72,7
15	83,8	89,5	75,0
16	75,0	91,3	68,5
17	74,4	91,4	68,0
18	84,7	91,2	78,0
19	81,2	89,9	73,0
20	77,5	90,3	70,0
21	54,1	88,7	48,0
22	66,5	90,2	60,0
23	66,15	90,7	60,0
24	75,7	91,1	69,0
25	78,3	92,0	72,0
26	76,8	89,8	69,0
27	71,9	90,4	65,0
28	64,8	87,9	57,0
29	72,3	88,5	64,0

Příklad 30

L-Asparagyl-L-fenylalanin-ethylester z DANE-soli; di-draselná sůl kyseliny (S)-N-(1-methyl-2-dodecyloxykarbonylvinylo)-asparagové

Postupuje se analogicky jako v příkladě 10, pouze s tím rozdílem, že místo 0,02 molu L-fenylalanin-methylesteru se použije 0,02 molu L-fenylalanin-ethylesteru.

Získá se L-asparagyl-L-fenylalanin-ethylester.HCl.2H₂O ve výtěžku 68 % s obsahem 91,5 %, což odpovídá 62,2 % vztaženo na 100%~~ni~~ čistý produkt.

Příklad 31

L-Asparagyl-L-fenylalanin-propylester z DANE-soli; di-draselná sůl (S)-N-(1-methyl-2-dodecyloxykarbonylvinylo)-asparagové kyseliny

Postupuje se podle příkladu 10 s tím rozdílem, že místo 0,02 molu L-fenylalanin-methylesteru se použije 0,02 molu L-fenylalanin-propylesteru.

Získá se L-asparagyl-L-fenylalanin-propylester.HCl.2H₂O ve výtěžku 67,6 % s obsahem 90,7 %, což odpovídá 61,3 % vztaženo na 100%~~ni~~ čistý produkt.

Příklad 32

L-Asparagyl-L-fenylalanin-butylester z DANE-soli; di-draselná sůl kyseliny (S)-N-(1-methyl-2-dodecyloxykarbonylvinylo)-asparagové

Postupuje se podle příkladu 10 s tím rozdílem, že místo 0,02 molu L-fenylalanin-methylesteru se použije 0,02 molu L-fenylalanin-butylesteru.

Získá se L-asparagyl-L-fenylalanin-butylester.HCl.2H₂O

ve výtěžku 66,8 % s obsahem 91,0 %, což odpovídá 60,8 % vztaženo na 100%ní čistý produkt.

Příklad 33

Aspartam-hydrochlorid z DANE-soli; di-draselná sůl kyseliny (S)-N-(1-methyl-2-dodecyloxykarbonylvinyl)asparagové

Postupuje se podle příkladu 10 s tím rozdílem, že se místo 0,02 molu chloridu kyseliny pivalové použije 0,027 molu chloridu kyseliny hexanové.

Získá se α -aspartam.HCl.2H₂O ve výtěžku 64,8 % s obsahem 88,9 %, vztaženo na 100%~~ní~~ čistý produkt je to ve výtěžku 57,6 %.

Příklad 34

Aspartam-hydrochlorid z DANE-soli; di-draselná sůl kyseliny (S)-N-(1-methyl-2-dedecyloxykarbonylvinyl)asparagové

Postupuje se podle příkladu 19 s tím rozdílem, že se místo 0,02 molu chloridu kyseliny pivalové použije 0,027 molu chloridu kyseliny benzoové. Získá se α -aspartam.HCl.2H₂O ve výtěžku 63,7 % s obsahem 87,9 %, vztaženo na 100%ní čistý produkt je to výtěžek 56,0 %.

23
- 21 -

PRIL

PRŮV. ALEK
AODJEVY

OVD

07 VII 85

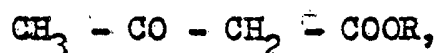
Číslo

031713

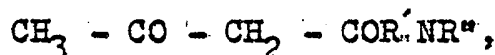
Čj.

P A T E N T O V E N Á R O K Y

1. Způsob výroby L-aspartyl-L-fenylalanin- C_{1-4} -alkylesterů převedením bivalentní soli kyseliny asparagové s chráněnými aminoskupinami na vnitřní anhydrid a jeho reakcí s C_{1-4} -alkylesterem L-fenylalaninu s následujícím odštěpením ochranné skupiny za získání konečného produktu, ^{vyznačující se tím,} že se vychází z bivalentní soli kyseliny asparagové s hydroxidem alkalického kovu, získané v alifatickém C_1-C_5 -alkoholu nebo alifatickém nebo cykloalifatickém, sekundárním nebo terciárním aminu se 2 až 6 atomy uhlíku, načež se aminoskupina ^{chrání} ~~za účelem její ochrany uvedením in situ v reakci s C_8-C_{20} -alkylacetoacetátem obecného vzorce~~



v němž R znamená alkylový zbytek s 8 až 20 atomy uhlíku, nebo s acetoacetamidem obecného vzorce



v němž R' znamená atom vodíku nebo alkylový zbytek s 1 až 20 atomy uhlíku a R'' znamená alkylový zbytek s 1 až 20 atomy uhlíku,

a takto vzniklý reakční produkt se reakcí v chloridu alifatické karboxylové kyseliny s 5 nebo 6 atomy uhlíku nebo v chloridu kyseliny benzoové převede na vnitřní anhydrid.

2. Způsob podle bodu 1, vyznačující se tím, že se používá alkylacetoacetátu s přímým nebo rozvětveným alkylovým zbytkem s 8 až 20 atomy uhlíku.

3. Způsob podle bodů 1 a 2, vyznačující se tím, že se používá alky lacetoacetátu v množstvích 0,7 až 2,5 mol na 1 mol vsazené kyseliny asparagové.

4. Způsob podle bodů 1 až 3, vyznačující se tím, že se používá acetoacetamidu, jehož aminoskupina je jednou nebo dvakrát substituována alkylovými zbytky, přímými nebo rozvětvenými, obsahujícími 2 až 12 atomů uhlíku.

5. Způsob podle bodů 1 až 4, vyznačující se tím, že se používá acetoacetamidu v množstvích 0,7 až 2,5 mol na 1 mol vsazené kyseliny asparagové.

6. Způsob podle bodů 1 až 5, vyznačující se tím, že se k tvorbě vnitřního anhydridu používá chloridu kyseliny pivalové v množstvích 0,5 až 2,0 mol, vztaženo na 1 mol reakčního produktu s chráněnými aminoskupinami.

7. Způsob podle bodů 1 až 6, vyznačující se tím, že se jako organického aminu používá sekundárního a terciárního aminu v množstvích 1 až 3,5 mol.

8. Způsob podle bodů 1 až 7, vyznačující se tím, že při použití diamonné soli jako bivalentní soli kyseliny asparagové se převede tato diamonná sůl působením hydroxidu alkalického kovu na dialkalickou sůl.

9. Způsob podle bodů 1 až 8, vyznačující se tím, že se jako hydroxid alkalického kovu používá hydroxid lithného, sodného nebo draselného, v množstvích 1,6 až 2,5 mol na 1 mol kyseliny asparagové.

Zastupuje:

UTRIN - Ústav technického
rozvoje a informací, PRAHA
U Sovových mlýnů 7
113/56 PRAHA 1 (46)

Kadlecová