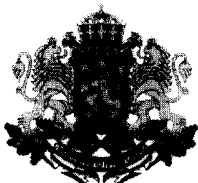


РЕПУБЛИКА БЪЛГАРИЯ



(19) BG

ЗАЯВКА ЗА ПАТЕНТ
ЗА
ИЗОБРЕТЕНИЕ

(11) 98305A

(51) C12P 41/00 C12P 17/06
C12P 17/14 C07D319/20
C07D311/04 C07D265/36
C07D327/06 C07D405/12
C07D407/12

ПАТЕНТНО ВЕДОМСТВО

<p>(21) Заявителски № 98305 (22) Заявено на 16.12.1993 (24) Начало на действие на патента от:</p> <p style="text-align: center;">Приоритетни данни</p> <p>(31) 92204043 (32) 21.12.1992 (33) EP</p> <p>(41) Публикувана заявка в бюлетин № 7 29.07.1994 (45) Отпечатано на (46) Публикувано в бюлетин № на (56) Информационни източници:</p> <p>(62) Разделена заявка от рег. №</p>	<p>(71) Заявител(и): DUPHAR INTERNATIONAL RESEARCH B.V. , , WEESP , WEESP (NL) ; (72) Изобретател(и): BUIZER , NICOLAAS . , WEESP (NL) ; KRUSE , CHRIS G . , WEESP (NL) ; VAN DER LAAN , MELLE . , WEESP (NL) ; LANGRAND , GEORGES . , WEESP (NL) ; VAN SCHARRENBURG , GUSTAAF J . , WEESP (NL) ; SNOEK , MARIA C . , WEESP (NL) ; (74) Представител по индустриална собственост: Фани Владимирова Божинова , 1000 София , п.к.728</p> <p>(86) № на PCT заявка: (87) № и дата на PCT публикация:</p>
---	--

(54) ЕНЗИМЕН МЕТОД ЗА СТЕРЕОСЕЛЕКТИВНО ПОЛУЧАВАНЕ НА ЕНАНТИОМЕР НА ХЕТЕРОБИЦИКЛИЧЕН АЛКОХОЛ

(57) 1. Ензимен метод за стереоселективно получаване на енантиомер на хетеробицикличесен алкохол с обща формула, която X означава O, S, NH, N-(C1-C4)алкил или CH₂, Y₁, Y₂ и Y₃ независимо един от друг означават водород или заместител, избран от групата, включваща халоген, C1-C4 алкил, C1-C4 алкокси, C1-C4 халоалкил, нитро и циано, заместителят NO₂ е присъединен към бициклическия пръстен на 5-то или 7-мо място и хиралният C*-атом има R или S конфигурация, и от съответния му алкохолен рацемат чрез последователно провеждане на следните реакционни етапи: (i) ацилиране на рацемата с ацилиращ реагент под въздействие на ензим със стереоселективна естерифицираща активност; (ii) отделяне на неестерифицираното съединение от получения естер и изолиране на желаното същество чист енантиомер на алкохол с формула I или на негов естер; (iii) подлагане на получения естер на хидролиза, при което той се превръща в съответния алкохолен енантиомер, характеризиращ се с това, че нежеланият алкохолен енантиомер се превръща в изходния алкохолен рацемат при алкални условия, така че да може да се използва отново.

BG 98305A

12 претенции , 0

ЕНЗИМЕН МЕТОД ЗА СТЕРЕОСЕЛЕКТИВНО ПОЛУЧАВАНЕ НА ЕНАНТИОМЕР НА ХЕТЕРО-БИЦИКЛИЧЕН АЛКОХОЛ

Настоящото изобретение се отнася до ензимен метод за стереоселективно получаване на енантиомер на хетеро-бицикличесен алкохол. Изобретението се отнася също до енантиомер на алкохол, който фактически е чист продукт и до използване на този енантиомер за получаване на фармакологично активни пиперазинови производни.

Различни биологично активни вещества, които могат да се използват например във фармацевтични състави за приложение в хуманната или ветеринарна медицина, съдържат в молекулната си структура хирален център, който определя съществуването на оптични изомери. На специалистите в тази област е известно, че често само единият от изомерите проявява желаната оптимална биологична активност. Присъствието на другия оптичен антипод в състава или средството може да причини или да засили някои странични ефекти и да обременява тялото на човека или на животното, които приемат лекарството. Общо взето все по-често се смята желателно приложението на биологично активното вещество под формата на ~~на~~ същество чист енантиомер, който специфично притежава желаната биологична активност. Поради това разделянето на рацемата на неговите енантиомери често представлява

важен етап на метода за получаване на биологична активни вещества.

Съществуват три метода, подходящи за разделяне на рацемати в съответните им енантиомери. Първият от тях е методът за разделяне, който се основава на разлика във физичните свойства, напр. в кристалната структура, и е приложим само в редки случаи.

Вторият метод, който е много по-често използван, се състои в разделяне чрез реакция с подходящ оптично активен реагент до получаване на диастереомери, които се различават по физични характеристики, позволяващи разделянето им. Така, получените по този метод диастереомери могат да бъдат разделени напр. чрез прекристализация, след която съответните енантиомери могат да се получат при допълнително химично третиране. Може да се види, че този метод за разделяне на рацемати е лабораторно трудоемък и скъп, като се има предвид използването и регенерирането на скъпи оптично-активни реагенти.

Напоследък е създаден един по-икономичен метод за разделяне, при който се използват ензими за химично селективно модифициране на единия енантиомер от рацемата, след което модифицирания енантиомер се разделя от немодифицирания. Един пример за използването на такъв метод е описан от *Bianchi* и др. /*J. Org. Chem.*, 1988, 53, 5531-5534/, които съобщават за използването на карбоксилни анхидриди като ацилиращи реагенти при катализирано с липаза селективно естерифициране на рацемични алкохоли. Те са успели да получат някои първични и вторични алкохоли с висока оптична активност, напр. със съдържание на желанния енантиомер над 95 %. В действителност, при повечето от случаите на фармацевтично приложение на енантиомери е желателно съдържанието на активния енантиомер да бъде

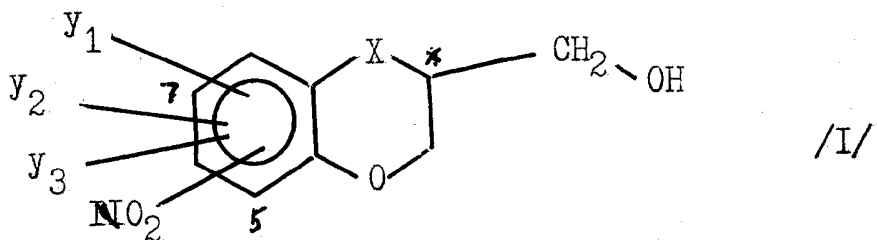
най-малко 95 %. Макар, че някои резултати получени от *Bianchi* и сътрудници са обещаващи, при работа с някои алкохоли не се наблюдава стереоселективно превръщане или то е недостатъчно. В две скорешни публикации на *Ennis* и др. /*Tetrahedron Lett.*, 1992, 33, 6283-6286 и 6287-6290/ е описано приложение на методиката на ензимно разделяне при 2-хидроксиметил-1,4-бензодиксани. Авторите са установили, че чрез еднократно прилагане на този метод за разделяне не може да се постигне изискваната от стандартите оптична активност, така че се налага повтаряне на метода за ензимно разделяне.

С цел да се улесни разделянето на естери, получени от алкохоли, *Terao* и др. /*Chem. Pharm. Bull.*, 1989, 37, 1653-1655/ използват анхидрид на янтарната киселина за получаване на енантиомер на моноестер на янтарната киселина, който по-лесно може да се отдели от другия, непрореагирал алкохолен енантиомер чрез промиване с алкален разтвор. По този начин желаният активен енантиомер може да бъде отделен от нежелания неактивен енантиомер с по-малко усилия, макар че получената оптична чистота, определена от съдържанието на желания енантиомер общо взето не е задоволителна. Само в един случай, а именно при работа с /1-хидроксиетил/бензен, който е вторичен алкохол, ензимното разделяне на рацематите при енантиоселективно естерифициране с янтарен анхидрид дава задоволителни резултати.

Освен често непредсказуемите резултати, получаващи се при ензимното разделяне на алкохолни рацемични смеси, от горните публикации може да се направи извод, че има и друг проблем, който е присъщ изобщо за разделянето на желан алкохолен енантиомер от съответния рацемат. В действителност, при всяко разделяне на рацемична смес освен желания енантио-

мер се получава и нежелан оптичен антипод, който в общия случай не се използва. Това означава, че най-малко 50 % от в общия случай скъпо струващото рацемично вещество трябва да се приеме като химически отпадък или с други думи добивът на активното вещество при разделяне на рацемати е най-много 50 %. Това ясно е илюстрирано с Таблиците в цитираните по-горе публикации на Ennis и др., които показват, че от първоначалния рацемат може да се получи най-много 50 % добив на желания енантиомер или под формата на непревърнат алкохол, или след превръщането му в естер.

Предмет на настоящето изобретение е да осигури икономически изгоден метод за стереоселективно получаване на енантиомер на хетеро-бицикличен алкохол. Това се постига по метода, съгласно изобретението чрез ензимен метод, който се състои в това, че по същество чист енантиомер с обща формула I



в която X е O, S, NH, N-/C₁-C₄/алкил или CH₂;

Y₁, Y₂ и Y₃ независимо един от друг означават водород или заместители, избрани от групата, съдържаща халоген, C₁-C₄алкил, C₁-C₄алкокси, C₁-C₄халоалкил, нитро и циано;

NO₂ групата е присъединена към бицикличната система в 5^{та} или 7^{ма} позиция и

C⁺-атомът има или R или S конфигурация;

се получава от съответния му алкохолен рацемат при използване

на следните последователни реакционни етапи:

/i/ ацилиране на рацемичната смес с ацилиращ реагент под въздействието на ензим, притежаващ стереоселективна естерифицираща активност;

/ii/ отделяне на неестерифицираното съединение от получения естер и изолиране на желания чист посъщество алкохолен енантиомер с формула I или на негов естер;

/iii/ подлагане на получения естер на хидролиза, при което той се превръща в съответния алкохолен енантиомер; и

iv/ превръщане на нежелания алкохолен енантиомер в изходния алкохолен рацемат при алкални условия, така че той да може да се използва отново.

Напълно против очакванията, описаното по-горе третиране с база /етап iv/ води до рацемизиране на нежелания алкохолен енантиомер. Този феномен не може да бъде обяснен, тъй като протонът, който е присъединен към хиралния център /C*/ изобщо не е киселинен. Така полученият алкохолен рацемат може да се използва отново като изходен материал за следващата реакция за разделяне на енантиомерите. Очевидно е, че настоящето изобретение осигурява един приложим ензимно катализиран стереоселективен метод за получаване на алкохолен енантиомер, както от икономическа, така и от гледна точка на неговите качества и предимства.

Подходящи като ацилиращи реагенти за описания по-горе етап на ацилиране са киселинните анхидриди, както ще бъдат посочени по-долу, и винилестери, такива като винилацетат, винилпропионат, винилбутират, винилизобутират и други подобни. Реакцията на ацилиране се провежда за предпочитане в органичен разтворител, съдържащ малко количество вода или воден буфер.

Ензимът, който се използва най-често е суров твърд препарат, търговски достъпен, което улеснява неговото регенериране. Ензимът, обаче, може да се използва също и в имобилизирано състояние, напр. свързан ковалентно или адсорбиран върху подходящ носител. Неестерифицираното съединение може да се отдели от получения естер при използване на различни познати методи за разделяне на подобни съединения, като например екстракция, прекристализация, препаративна колонна хроматография и други подобни.

По същество /фактически/ чистият алкохол енантиомер, както е споменат по-горе, трябва да се разбира като алкохол със съдържание на единия енантиомер над приблизително 95%. Ако при ензимния метод, съгласно изобретението не може да се постигне такава чистота на енантиомера, то енантиомерната чистота може да се повиши до желаното ниво чрез обичайния метод на прекристализация. Изолирането на желания чист по същество алкохол енантиомер, както е описан по-горе, може също да изисква провеждане на прекристализация, с цел да се подобри чистотата на енантиомера и да се отстранят малки количества от онечиствания.

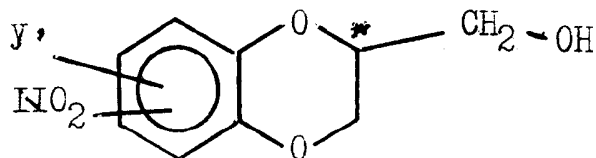
Решаващият етап на метода, а именно, рацемизирането на нежелания алкохол енантиомер при алкално третиране, може по-лесно да се проведе както при апротонни, така и при протонни условия. Подходящи за използване бази са натриева основа, калиев хидроксид, литиев хидроксид, амониев хидроксид и други подобни, разтворени във вода или във водна смес от разтворители, съдържащи смесими с вода органични разтворители, като алкохоли. Примери за бази, които могат да се използват в апротонни системи са : а/ хидриди, напр. натриев хидрид в апротонен разтворител като диметилсулфоксид /DMSO/;

б/ калиеви алкоксида, като калиев трет.бутоксид и калиев метил-2-бутоксид, в апротонни разтворители, като естери /напр. тетраhydroфуран /THF/; и с/ алкиллитиеви съединения и литиеви алкиламида, като напр. метиллитий, бутиллитиеви съединения и литиев диизопропил амид, също в апротонни разтворители, като тетраhydroфуран. Алкохолният рацемат може да бъде възстановен с добри добиви след неутрализация с киселина, напр. чрез екстракция с подходящ органичен разтворител из водната фаза и след това ако е желателно след изпаряване на разтворителя е готов за ново използване.

Хидролизата на получения естер, която е описана като етап /iii/ по-горе може по подходящ начин да се проведе в кисела среда или в слабо алкална среда, за да се избегне рацемизирането на алкохолния енантиомер, който се получава.

При едно специфично изпълнение на настоящето изобретение, обаче, описаната по-горе хидролиза на естера и рацемизирането на алкохолния енантиомер могат да се обединят. По този начин етапите /iii/ и /iv/ на реакцията се комбинират така, че редукцията се постига в един реакционен етап. За да се осъществят двете реакции едновременно, а именно хидролиза и рацемизиране, са необходими подходящи силно-алкални условия, както е описано по-горе за етапа на рацемизиране.

Методът, съгласно изобретението е подходящ за приложение за предпочитане при стереоселективно получаване на по същество чист алкохолен енантиомер със структурата на бензодиоксана, а именно на съединение с обща формула II



/II/

в която У' е водород или заместител, избран от хлоро, флуоро и метил; заместителят NO₂ е присъединен към 5^{то} или 7^{мо} място в бензодиксановия пръстен; и хиралният C* - атом е в R или S конфигурация; се прилагат реакционните етапи, както са описани по-горе, до получаване на съединение с формула /I/.

За предпочитане ензимът се прилага като твърдо вещество, което позволява той по-лесно да се регенерира и да се използва отново. Възстановяването на ензима обикновено се осъществява след провеждане на етап /i/, описан по-горе, така че след етапа на ацилиране той се възстановява при използване на подходящ за тази цел метод, например чрез обикновено филтриране. Ако се използва ензим, който е свързан с подходящ носител, напр. целит /вж. цитираната по-горе публикация на Bianchi и др./ или стъклени топчета, то ензимът може да се регенерира също чрез обикновено филтриране, при желание последвано от промиване за отстраняване на онечистванията.

Използването на анхидриди на карбоксилни киселини се предпочита, в сравнение с използването на винилестери като ацилиращи агенти, тъй като анхидридите, като оцетен анхидрид, пропионов анхидрид, бутанов анхидрид, изобутанов анхидрид или хексанов анхидрид, в присъствие на подходящи ензими общо взето осигуряват по-добро ацилиране. За улесняване на отделянето на неестерифицираното съединение от получения естер се предпочита използването на анхидриди на циклични карбоксилни киселини, като янтарен анхидрид или глутаров анхидрид. Полученият по този начин моноестер може по-лесно да се отдели от неестерифицираното съединение чрез екстракция със слабо алкален разтвор при такива условия, че естерът остава незасегнат.

Подходящи ензими за провеждане на стереоселективното

естерифициране са хидролази, като напр. природно съществуващи или инженерно създадени липази и естерази. Примери за подходящи липази са следните: *Aspergillus niger*, *Candida cylindracea* /като Meito[®] MY 30; Amano[®] AY/, *Candida lipolytica*, *Chromobacterium viscosum*, *Geotrichum candidum*, *Humicola lanuginosa*, *Mucor miehei*, *Mucor javanicus* /като Amano[®] M/, Pig pancreatic lipase, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium roqueforti*, *Pseudomonas ceracia* /Amano[®] PS/, *Pseudomonas fluorescence* /като Amano[®] P/, *Rhizopus niveus* /като Amano[®] N/, *Rhizopus javanicus* /като Amano[®] F/, *Rhizopus arrhizus* и *Rhizopus delemar*.

Противно на предположенията, описани в публикацията на Bianchi и др., сега е установено, че някои липази, и в частност липазата *Candida cylindracea* имат предпочитано въздействие спрямо S енантиомера. Поради това, такива липази са в състояние да естерифицират стереоселективно S енантиомера, в резултат на което оставащият R енантиомер може да се получи с висок добив и стереохимична чистота. Други липази, напр. *Pseudomonas fluorescence* и много други липази превръщат с предпочитание R енантиомера и поради това са много подходящи за изолиране на S енантиомера, също така с висок добив и стереохимична чистота.

Настоящото изобретение се отнася също така до чисти по същество алкохолни енантиомери с обща формула I, посочена по-горе, в която заместителите X и Y имат дадените по-горе значения, заместителят NO₂ е присъединен на 5^{то} или 7^{мо} място и хиралният C-атом има R конфигурация.

Този енантиомер може да бъде получен по подходящ начин, чрез използване на ензимния метод, съгласно изобретението. Този енантиомер може да се използва като основен междинен

продукт за получаване на някои фармакологично активни пиперазинови производни, както ще бъде описано по-долу.

В списанието "Drugs of the Future", 1988, 13, 31-33 е описан метод за получаване на флесиноксан хидрохлорид, който е мощен орално активен 5-HT_{1A} агонист. По този метод рацемичният бензодиоксан, с формула, отговаряща на формула II, дадена по-горе, в която Y' означава хлорен заместител на 7^{MO} място, първоначално взаимодейства с бензоилхлорид за да се защити хидроксилната му група. Тогава се провежда каталитично хидрогениране, последвано от взаимодействие с бис/хлороетил/амин до получаване на рацемично пиперазиново съединение. В този етап се провежда разделяне на пиперазиновия рацемат при използване на /+/-камфорсулфонова киселина. След няколкократно прекристализиране се получава оптически чист R-/+/-енантиомер. Този енантиомер взаимодейства с N-/4-флуоробензоил/азирин, защитената хидроксилна група се освобождава чрез осапунване на бензоатния естер и накрая чрез третиране със солна киселина се получава желаният чист по същество /+/-енантиомер, а именно флесиноксан.HCl. В споменатата по-горе публикация на Ennis и др. /Tetrahedron Lett., 1992, 33, 6287-6290/, е описано ензимно разделяне на флесиноксан и на неговите оптични антиподи в крайния етап на разделяне. След труден двукратен ензимен процес желаният флесиноксан може да се изолира с задоволителна енантиомерна чистота.

От описаното по-горе може да се види, че известните методи за получаване на флесиноксан са трудоемки и скъпи, особено поради това, че се налага лабораторно разделяне на рацемата в един напреднал етап на многоетапния синтетичен метод. Очевидно е, че неизбежните загуби на активния материал по време на разделянето са по-големи и вредни в напредналия стадий на

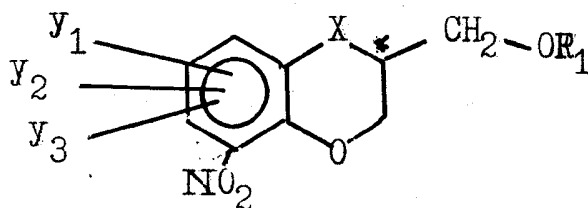
синтеза.

Сега бе установено, че по същество чист енантиомер на алкохол с обща формула I може да се получи по подходящ начин при използване на основен междинен продукт при синтеза на фармакологично активни пиперазинови производни, при което се избягва необходимостта от лабораторно разделяне на рацемичната смес в един напреднал етап на многоетапния синтез.

Освен това, настоящето изобретение се отнася до използване на по същество чист енантиомер на алкохол с обща формула I, посочена по-горе, в която X и заместителите Y имат посочените по-горе значения, заместителят NO_2 е присъединен на 5^{то} място във бицикличната пръстенова система и хиралният C-атом има R конфигурация,

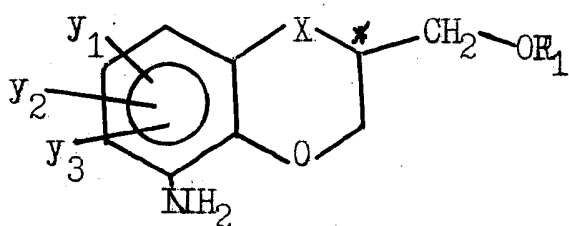
за получаване на фармакологично активни пиперазинови производни, чрез подлагане на посочения енантиомер на следната последователност от реакционни етапи:

/i/ защита на свободната хидроксилна група с подходяща хидрокси-защитна група, при запазване на абсолютната конфигурация на C-атома, до получаване на съединение с обща формула



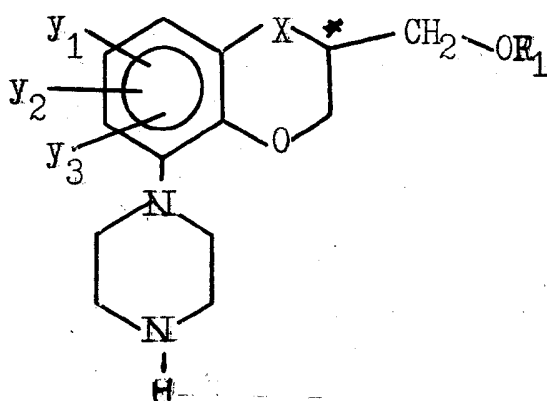
в която R_1 е хидрокси-защитна група;

/ii/ редукция на нитро групата, така че по същество чистия енантиомер с формула III да се превърне в amino съединение с обща формула /IV/



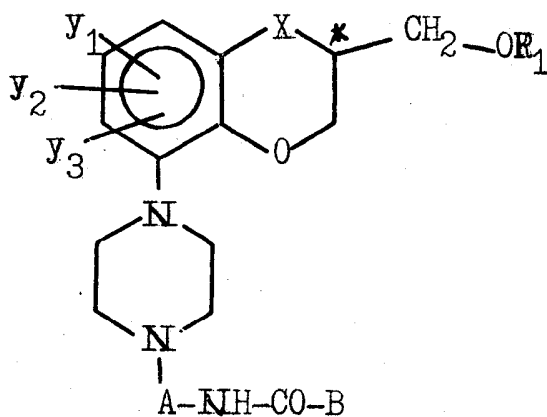
/IV/

при запазване на абсолютната конфигурация на C^* -атома;
/iii/ превръщане на получения по-горе амин с формула IV в пиперазин с обща формула



/V/

при запазване на абсолютната конфигурация на C^* -атома;
/iv/ превръщане на пиперазиновото съединение с формула V при запазване на абсолютната конфигурация на C^* -атома в пиперазин с обща формула



/VI/

в която А означава права или разклонена C_2-C_4 алкиленова група и В е фенолна или хетероциклична група, избрана

от тиенил, пиранил, фурил, пиролил, пиридил и пирозинил, които могат да бъдат заместени с един или повече заместители избрани от халоген, C₁-C₃-алкил, C₁-C₃-халоалкил, циано, нитро, хидрокси, естрифицирана хидрокси и C₁-C₃-алкокси група, при взаимодействие на пиперазиновото съединение с формула V или с /а/ съединение с обща формула



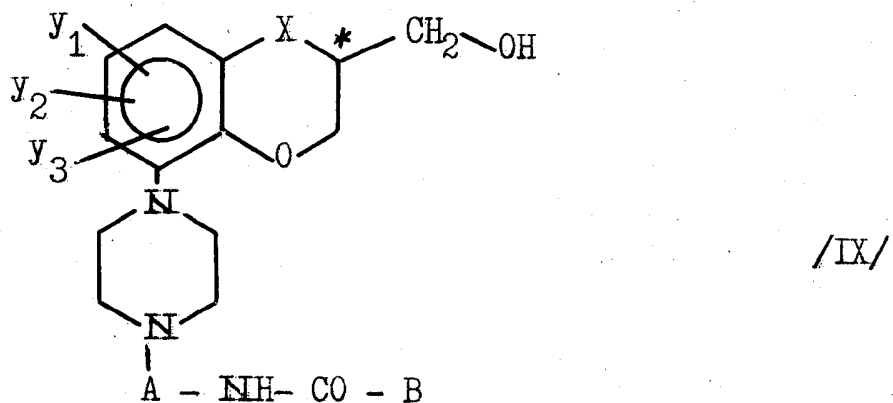
в която L е отцепваща се група, за предпочитане хлоро, мезилат или тозилат, или с

/б/ съединение с обща формула



до получаване на пиперазиново производно с обща формула с обща формула VI, в която A е етилен; и накрая

/v/ отцепване на защитната група на съединение с формула VI до получаване на свободен алкохол енантиомер с обща формула



в която C* - атомът има R конфигурация.

От горепосоченото става ясно, че описаната по-горе реакционна последователност на етапите може лесно да се осъществи при запазване на абсолютната конфигурация на C* - атома, така

че енантиомерната чистота на крайното пиперазиново производно не се нарушава.

Свободната хидроксилна група може да бъде защитена /реакционен етап /i// чрез получаване на подходяща естерна или етерна група. Примери за подходящи хидрокси-защитни групи са: /трихидрокарбил/силил, /дихидрокарбил//хидрокарбилокси/силил, трет./C₄-C₁₂/-алкил, в даден случай заместен феноксил/C₂-C₈/-диалкил/етил, /C₁-C₄/алкокси/C₂-C₈/диалкил/метил, /тио/ацетал-съставлящи групи, като ди- и тетра-хидропиран-2-ил и ди- и тетра-хидрофуран-2-ил, и естер-образуващи групи, производни на моно-, ди- или три-заместена оцетна киселина, при които заместителите са избрани за предпочитане от /C₁-C₁₂/алкил и в даден случай заместен с един или повече заместители фенил, по избор с един или повече метилови групи заместена циклохексан-карбоксилова киселина или адамантан карбоксилова киселина. Използваното по-горе понятие "хидрокарбил" включва C₁-C₈-алкил, C₂-C₈-алкенил, C₂-C₈-алкинил, фенил или фенил, заместен с един или повече заместители. Подходящи заместители за споменатите по-горе фенил и феноксил групи са: хидрокси, алкокси, алкилкарбонилокси, амино, алкиламино, диалкиламино, алкилкарбониламино, алкилсулфониламино, нитро, алкилсулфонил, алкилкарбонил, халоген, циано, алкил, като алкиловите заместители съдържат 1 до 5 въглеродни атома, и /C₅-C₁₂/циклоалкил.

Редукцията на нитро групата до amino група /етап ii/ може да се извърши по подходящ начин с водород при въздействие на подходящ метален катализатор, напр. Pd/C, в подходящ полярен органичен разтворител, напр. алкохол.

Превръщането на amino групата в пиперазин /етап iii/ може лесно да се осъществи, напр. с помощта на бис/2-хлороетил/амин, в подходящ органичен разтворител, напр. ароматен

въглеродород, като толуен, хлоробензен и други подобни.

Реакционният етап, обозначен с /iv/ по-горе се провежда за предпочитане по начина, описан в описанието на Европейски патент № 138280, а именно в инертен органичен разтворител или в отсъствие на разтворител, при реакционните условия, както са описани в патента.

Крайното отстраняване на хидрокси-защитната група може да се проведе с реагенти подходящи за отцепване на естерифициращата или етерифициращата група. Естерите могат да се хидролизират по подходящ начин при слабо алкални или при киселинни условия на реакцията, при запазване на абсолютната конфигурация на C*-атома. Етерното отцепване се провежда за предпочитане с помощта на силни киселини в органичен разтворител.

Освен това, настоящето изобретение се отнася до нови междинни продукти, получаващи се в описаната по-горе реакционна последователност, а именно до чисти по същество енантиомери на съединенията с обща формула III и IV, посочени по-горе, в които X и заместителите Y имат посочените по-горе значения и конфигурацията на C*-атома съответства на R конфигурацията на C* атома на споменатото по-горе съединение с формула I.

Накрая, изобретението се отнася също и до метод за получаване на по същество чисти енантиомери на пиперазинови производни с обща формула IX, посочена по-горе, при който първоначално се получава по същество чист алкохолен енантиомер с обща формула I, представена по-горе, в която C*-атома има R конфигурация, от съответния алкохолен рацемат, при прилагане на последователност от реакционни етапи, както са отисани по-горе, последвано от превръщане на съединението с формула I в желания пиперазин, чрез реакционна последователност, както е

описана по-горе.

Изобретението е описано по-подробно чрез следващите специфични примери

Пример I

Разтвор на 125 mM /+/-2,3-дихидро-5-нитро-7-хлоро-1,4-бензодиоксан-2-метанол /BDA/, 250 mM пропионов анхидрид и 0.2 % /w/v/ липаза *Pseudomonas fluorescens* /Amano® P/ в трет.бутилметилетер /TBME//хексан/вода /50/50/0.1 обем/обем/обем/ се подлага на инкубация при 37°C при разбъркване. След 80 % превръщане /естерифициране на алкохола/ реакцията се спира чрез отстраняване на ензима чрез филтриране. Полученият естер и останалият алкохол се разделят на Zorbax® C-8 колона. Енантиомерният излишък от остатъчния алкохол се анализира при използване на хирална d-глицопротеин /AGP/-колона. Енантиомерният излишък от остатъчен алкохол и полученият естер се определят също и чрез ¹H-ЯМР без да се разделят, при използване на +/- или /-/-трифлуорометил-9-антраценметанол като хирален агент. Оставаният алкохол съдържа S-/-/-алкохол с енантиомерен излишък от 97.5 % .

Пример II

По подобен на описания в Пример I начин се извършва естерификация с 0.2 % /тегло/обем/ липаза *Candida cylindracea* /Meit® M/ . След превръщане на 69 % от алкохола реакцията се спира. Останалият непревърнат алкохол представлява R-/+/-алкохол с енантиомерен излишък 97.5 % . R-/+/-алкохолът се охарактеризира чрез неговия ¹H-ЯМР спектър, както е описано в Пример I. Определен е също и ъгъла на специфично въртене на R-/+/-2,3-дихидро-5-нитро-7-хлоро-1,4-бензодиоксан-2-метанола /BDA/ в ацетонитрил, който е $(\alpha)_D^{25} = + 181.1^\circ$.

По подобен начин се получават също R-/+/-2,3-дихидро-5-нитро-7-метил-1,4-бензодиоксан-2-метанол и R-/+/-2,3-дихидро-5-нитро-1,4-бензодиоксан-2-метанол, които имат висок енантиомерен излишък.

Пример III

Разтвор от 250 mM / \pm /-BDA, маслен анхидрид и 0.5 % /тегло/обем/ липаза *Candida cylindracea* /Meito[®] MY/ в хексан /етилацетат/вода в обемни съотношения 50/50/0.2 се подлага на инкубация при 25°C при разбъркване. След превръщане на 65 % от алкохола реакцията се прекъсва. Останалият непревърнат алкохол представлява R-/+/-алкохол с енантиомерен излишък от 97.5 %.

Пример IV

По подобен на описания в Пример III начин, 250 mM / \pm /-BDA се подлага на инкубация с 500 mM изомаслен, респективно хексаноев анхидрид. След превръщане на 63 %, респективно на 60 % от алкохола реакцията се спира. Останалият алкохол съдържа R-/+/-алкохол, и в двата случая със съдържание на енантиомера над 97.5 %.

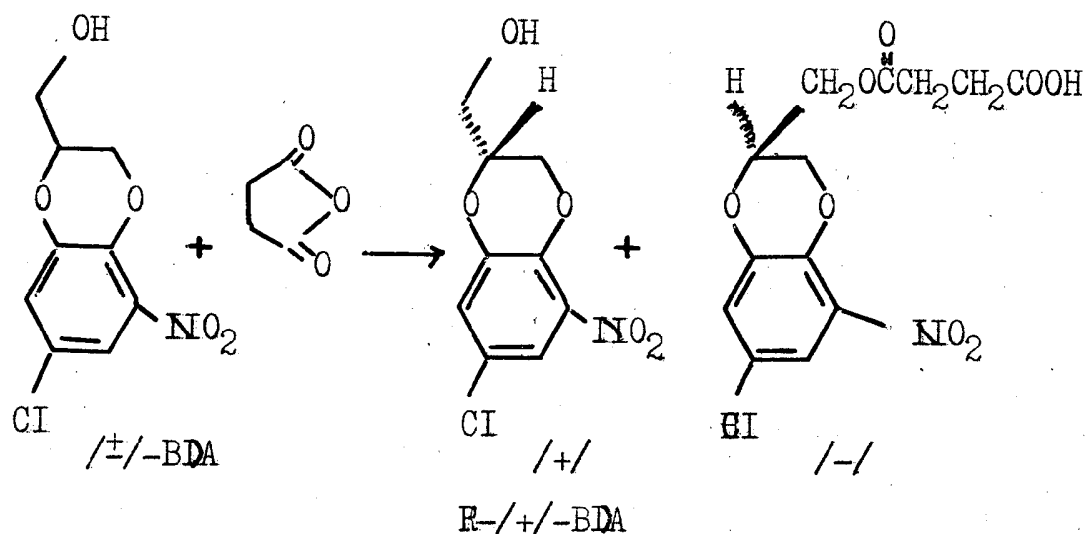
Пример V

Разтвор на 350 mM / \pm /-BDA янтарен /сукцинил/ анхидрид и 2.4 % /тегло/обем/ липаза *Candida cylindracea* /Meito[®] MY/ в смес от TBME/ацетонитрил/вода в обемно съотношение 90/10/0.6 се подлага на инкубация при стайна температура и разбъркване. След превръщане на 70 % от алкохола реакцията се спира чрез филтриране на ензима. Останалият непревърнат алкохол съдържа R-/+/-енантиомер с енантиомерен излишък от 98 %.

Пример VI

Енантио-селективно естерифициране

Реакционна схема



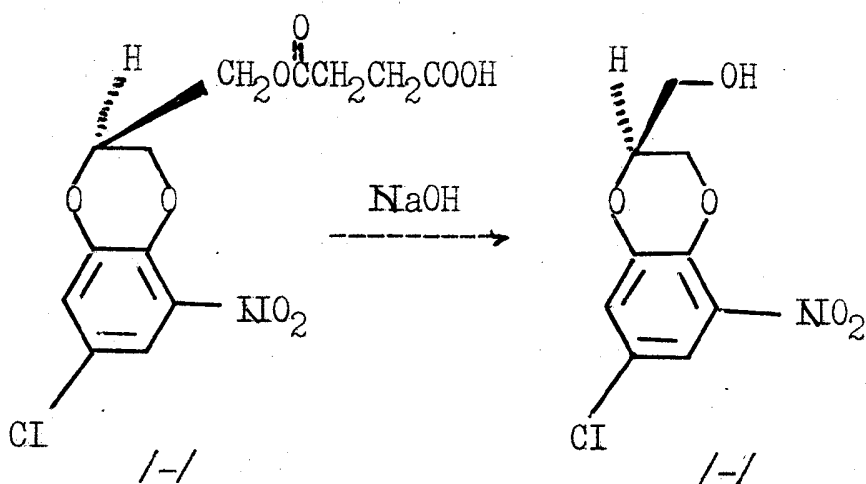
Разтвор на 15.2 kg /±/-BDA, 7.6 kg сукциниланхидрид и 3.7 kg липаза *Candida cylindracea* /Meito® MY / в смес от 200L трет.бутилметилетер /MTBE/, 17.5 L ацетонитрил и 925 ml вода се подлага на инкубация под атмосфера на азот при стайна температура в реактор. След като се постигне превръщане от 60-63 % /което се установява чрез високоефективна течна хроматография, приблизително около 20 часа/, реакцията се прекъсва чрез отфилтриране на ензима. Ензимът се промива двукратно с 10 L MTBE и органичният слой се промива последователно с 90 L и с 30 L воден разтвор на натриев карбонат /150 g Na₂CO₃ в 1 L вода/. Карбонатният разтвор се екстрахира двукратно с 10 L MTBE. Тогава обединените органични слоеве последователно се промиват с 30 L вода, с разредена солна киселина, получена при разтваряне на 40 ml 36 % HCl в 15 L вода, и с 10 L вода. Третичният бутилметилетер /MTBE/ се отдестилира във вакуум при 60°C. Кристалният остатък /4.6 kg / се разтваря в 15 L 96 % етанол при 60°C и към този разтвор при разбъркване се прибавя 10 L n-хексан. Сместа се охлажда приблизително до 10°C и след разбъркване в продължение на

2 до 10 часа кристалният материал се отделя чрез изсмукване, промива се последователно с 10 **ℓ** етанол/хексан в обемно съотношение 15/35 и с 5 **ℓ** п-хексан и се суши. Кристалният материал е чист /с енантиомерен излишък от 98 % / /+/-енантиомер, а именно **R**-/+/-2,3-дихидро-5-нитро-7-хлоро-1,4-бензодиоксан-2-метанол /**R**-/+/-BDA/; Добивът е приблизително 4 кг. Т.т. 116.0°C; $[d]_D^{25} = + 194.8^\circ /c = 4.5$; метанол/.

Пример VII

Осапуване на получения **S**-/-/-BDA естер

Реакционна схема:

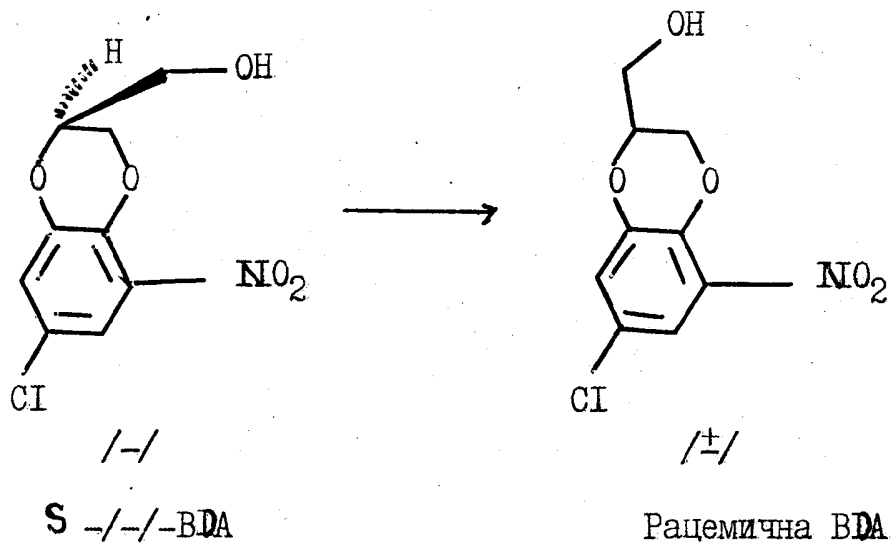


Към обединените водни слоеве от експеримента, описан в Пример VI се прибавя 15 **ℓ** 50 % натриева основа при около 23°C. Реакционната смес се разбърква в продължение на около 15 часа при 23°C и след това се охлажда до 5°C. След присаждане, сместа се бърка в продължение на 3 часа при 5°C. Кристалният материал се филтрира под вакуум, промива се с 60 **ℓ** вода и се суши. Полученият алкохол, който съдържа излишък от **S**-/-/-BDA енантиомера се получава с добив приблизително 10 кг.

Пример VIII

Рацемизиране на **S**-/-/-BDA енантиомера

Реакционна схема:



S -/-BDA, получена съгласно Пример VII, с тегло 1 kg се разтваря в 6 l n-пропанол под атмосфера на азот и се нагрява до кипене под обратен хладник. Към този разтвор се добавя 235 ml 2N водна натриева основа приблизително за 15 минути. Сместа се оставя да кипи в продължение на 1.5 часа. След охлаждане до около 40°C се прибавя разтвор на концентрирана солна киселина - 47 ml /до получаване на pH=3/. Пропанолът се отдестилира във вакуум при около 60°C. Към остатъкът се прибавя 4 l n-хексан и разтворът се присажда при охлаждане до 20°C и бавно разбъркване. След това се бърка два часа при 20°C и в продължение на една нощ при 0°C и кристалният материал се отделя чрез филтриране и се промива двукратно с 0.5 l n-хексан. Кристалният материал се разбърква след това с 7.5 l вода при около 70°C в продължение на 1 час. След охлаждане до 20°C се прибавя 350 ml n-хексан и се бърка още един час, кристалният материал се филтрира и се промива двукратно с 0.5 l n-хексан. След изсушаване се получава желаният рацемичен BDA с добив 850 g, съдържание 95%, енантиомерен излишък = 0. Т.т. 108.2°C.

Рацемизацията протича също така успешно с помощта на литиев диизопропиламид като база в разтворител тетраhydroфуран, при реакционна температура 40°C, като се постига пълна рацемизация след 5.5 часа.

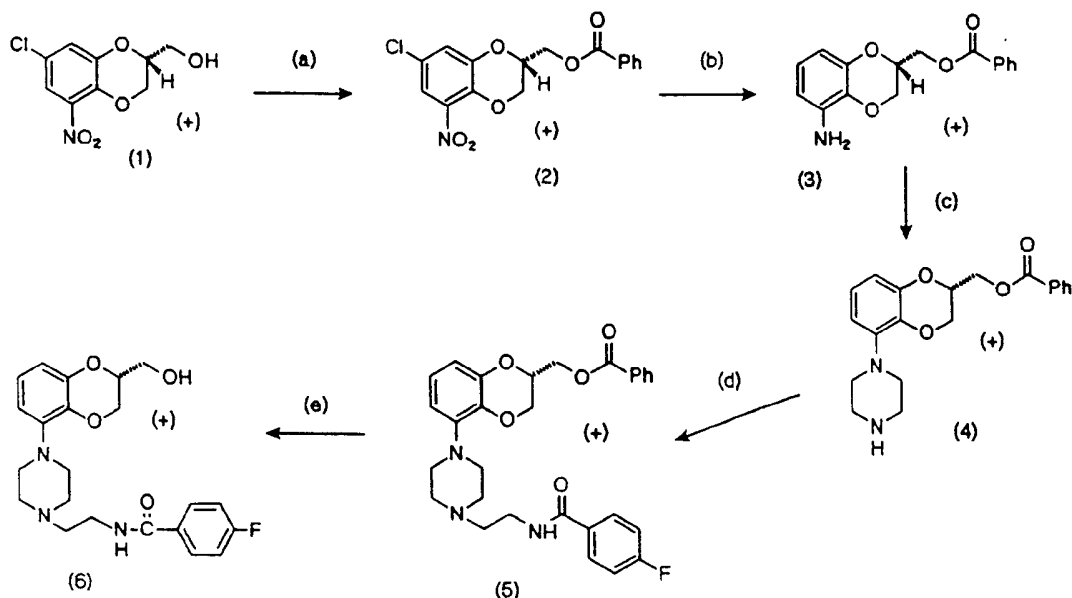
Пример IX

Осапунване и едновременно рацемизиране на S-/-/-BDA-естера
Към проба, която съдържа 43.5 g /126 mmol/ S-/-/-BDA-естер, 620 ml воден разтвор на карбонат /150 g Na₂CO₃ в 1 l вода/, 150 ml вода и 59 ml ацетонитрил, от основния воден слой, получен както е описано в Пример VI, се прибавя 250 ml етанол и 50 ml 50 % тегло/обем воден разтвор на натриев хидроксид. Реакционната смес се бърка при кипене под обратен хладник в продължение на 16 часа. След охлаждане до 40°C внимателно се прибавя 160 ml 12N воден разтвор на солна киселина /pH е приблизително 5/. Реакционната смес се охлажда до стайна температура след което твърдият материал се отделя чрез филтриране, промива се с вода и се суши. Получава се 23.8 g светло кафяв /±/-BDA с енантиомерен излишък = 0.

Пример X

Получаване на флесиноксан от R-/+/-BDA

Реакционна схема:



/а/ Бензоилиране на R-/+/-BDA /1/ с бензоилхлорид в метилен хлорид като разтворител, до получаване на съединение /2/.

Към разтвор на 20 g /0.081 mol / от съединение /1/ в 250 ml дихлорометан и 12 ml триетиламин се прибавя на капки 10.1 ml /0.086 mol/ бензоилхлорид при температура 25°C. След прибавяне на 10 ml вода и бъркане в продължение на 10 минути сместа се оставя да се разслои и слоевете се разделят. Органичният слой се промива с 50 ml вода и обединените водни слоеве се екстрахират с 25 ml дихлорометан. Органичните слоеве се обединяват и изпаряват при 100 m бара и 30°C. След прибавяне на 100 ml толуен, продуктът се изпарява до сухо / 10 m бара, 50°C /.

Желаното съединение /2/ се получава с добив 97.3 % , чистота 97.5 % . Тънкослойна хроматография /елуенти CH_2Cl_2 : $\text{CH}_3\text{OH}:\text{NH}_4\text{OH} = 94:5:1/$: $R_f = 0.71$.

/б/ Редукция на нитро-съединението /2/ до съответното амино-съединение /3/ в водород в присъствие на каталитично количество от Pd/C , с разтворител етанол.

Към разтвор на 6.0 g /16.7 mmol/ от съединение /2/ в 120 ml етанол и 40 ml етилацетат се прибавя 1.50 g Pd/C катализатор /39.1 % Pd/C 10 % и 60.9 % вода/. След разбъркване не в продължение на 5 минути се прибавя 10.8 g /10 еквивалента/ амониев формиат и сместа се бърка първоначално в продължение на 1 час при стайна температура и след това 2 часа при 40°C. Реакционната смес се охлажда до 20-25°C и катализаторът се филтрира и се промива с 50 ml етанол. Етанолът се изпарява при 100 m бара и 50°C. Остатъкът се разтваря в 75 ml етилацетат и 15 ml 2N воден разтвор на натриев хидрид. След разделяне на слоевете водният слой се екстрахира двукратно с 10 ml етилацетат. Обединените органични слоеве се промиват

двукратно с 25 ml вода и се изпаряват до сухо при 100 m бара и 50°C. След изсушаване във вакуум при 50°C се получава желаният продукт /3/ с чистота 96.0 % с добив 97.0 %.

Тънкослойна хроматография /при условията, посочени по-горе/: $R_f = 0.67$. Т.т. на HCl. сол: 218–223°C.

$$[d]_D^{25} = +65.1^\circ /c = 3.38, \text{ метанол/}.$$

/с/ Превръщане на аминок-соединението /3/ в съответния пиперазин с формула /4/ при взаимодействие с бис/2-хлороетил/амин. хидрохлорид в ксилен като разтворител

Към разтвор на 4.40 g /14.8 mmol/ от съединение /3/ в 50 ml ксилен се прибавя 2.8 g /14.8 mmol/ бис/2-хлороетил/амин. HCl. Реакционната смес се кипи под обратен хладник в атмосфера на азот в продължение на 48 часа. След охлаждане на реакционната смес до 35°C се прибавя 1.36 ml 50 % воден разтвор на натриев хидроксид в 25 ml 5 % воден разтвор на NaHCO_3 . Реакционната смес се бърка при 35°C в продължение на 3 часа, след което се прибавя 10 ml 2N воден разтвор на натриев хидроксид и 20 ml вода. След разбъркване при 35°C за 10 минути реакционната смес се охлажда до 20–25°C и слоевете се разделят. Ксиленовият слой се промива трикратно с 25 ml вода. Органичният слой се изпарява до сухо /100 % алкохол като увеличащо вещество/ при 10 m бара и 50°C. Желаният продукт /4/ се получава с чистота 85.5 % и с добив 82.3 %.

Тънкослойна хроматография /при условията, посочени по-горе/: $R_f = 0.07$. Т.т. на HCl-сол: 183–186°C.

$$[d]_D^{25} = +63.66^\circ /c = 1.67, \text{ метанол/}.$$

/d/. Взаимодействие на пиперазиновото съединение /4/ с 4-флуоробензоилазиридин до получаване на съединение /5/.

p-Флуоробензоилазиридин /53.8 g, 325 mmol/ и 200 ml толуен се прибавят към 100.7 g /284 mmol/ от съединение /4/.

Реакционната смес се оставя при понижено налягане и температура 80°C /ротационен вакуум изпарител/; 150 ml се изпаряват. След прибавяне на 100 ml толуен реакционната смес се третира както е описано по-горе в продължение на още два часа. След изпаряване до сухо, към остатъка се добавя метанол и продуктът се оставя да изкристализира при 5°C . Продуктът се филтрира, промива се с метанол / 200 ml / и хексан / 400 ml / и се суши. Желаното съединение /5/ се получава с чистота 82% и добив 105 g / 71% /. При обработване на матерната луга се получава допълнително количество от желания продукт.

Тънкослойна хроматография /виж условията, посочени по-горе/:
 $R_f = 0.59$. Т.т.: $126-127^{\circ}\text{C}$. $(d)_D^{25} = +56^{\circ}$. /с = 4.32 , CH_3OH /.
/е/ Осапунване на естер /5/ с KOH в етанол, последвано от подкиселяване със солна киселина в етанол, до получаване на флесиноксан /6/.

Към суспензия на 104 g / 0.2 mol / от съединение /5/ в 1500 ml 96% етанол се прибавя разтвор на 14 g / 0.25 mol / KOH в 10 ml вода. След разбъркване при $20-25^{\circ}\text{C}$ в продължение на 3.5 часа, етанолът се изпарява при 100 m бара и 50°C . Към остатъка се прибавя вода / 500 ml / и дихлорометан / 200 ml / и реакционната смес се бърка 5 минути. След разделяне на слоевете водният слой се екстрахира с 250 ml дихлорометан. Обединените органични слоеве се промиват два пъти с 100 ml вода. След изсушаване, органичният разтвор се изпарява до остатъчен обем от приблизително 200 ml . Към този остатък се добавя 300 ml етилацетат и се изпарява 100 ml от течността. Прибавя се 100 ml n -хексан и продуктът се оставя да изкристализира през нощта при 5°C . Кристалният продукт се филтрира, промива се последователно с 30 ml студен етилацетат и 200 ml n -хексан и се суши при 30°C . Получава се флесиноксан /чистота 78% /

с добив 73 g.

Тънкослойна хроматография /виж по-горе/: $R_f = 0.67$. Т.т.:
183-185°C. $[\alpha]_D^{20} = +27.8^\circ /c = 2.49; CH_3OH/$.

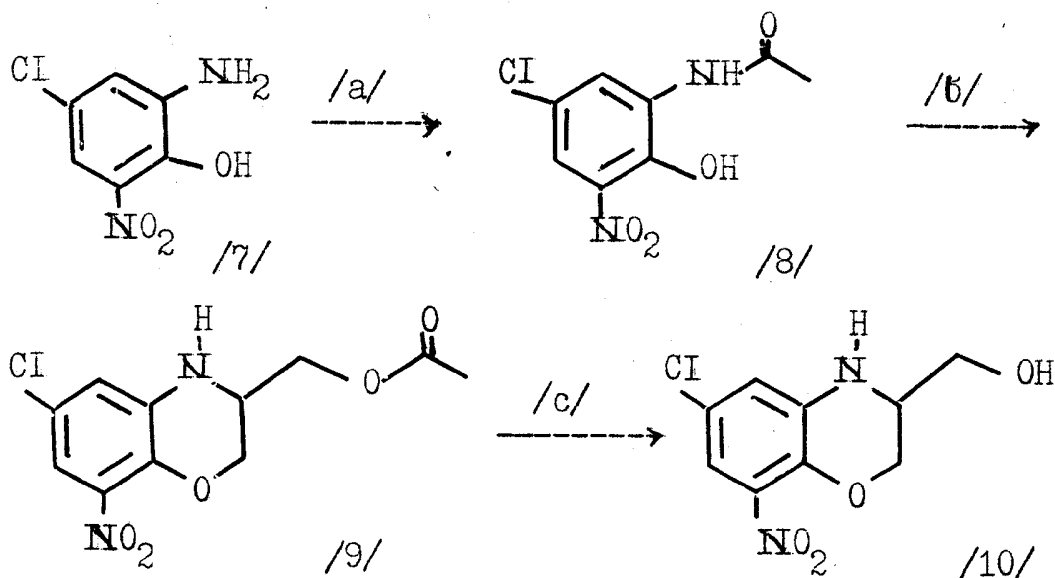
Пример XI

Разтвор на 0.2 M 5-хлоро-2,3-дихидро-7-нитро-1,4-бензодиазепин-2-метанол, 0.34 M янтарен анхидрид и 2% /тегло/обем/ липаза *Candida cylindracea* /Meito MV/ в ТВМЕ/ацетонитрил/вода в обемно съотношение 90/10/0.3 се подлага на инкубация при стабилна температура и разбъркване. След превръщане на 41% от алкохола /определен при използване на Zorbax C-8 колона/ реакцията се спира чрез филтриране. Останалият алкохол съдържа +/-енантиомер с енантиомерен излишък 38% /определен чрез използване на Chiralcel[®] OD-колона/.

Пример XII

Получаване на 6-хлоро-2,3-дихидро-8-нитро-1,4-бензоксазин-3-метанол.

Реакционна схема:



/a/ Към суспензия на 18.5 g /91 mmol/ от съединение /7/ в 50 ml толуен при разбъркване се прибавя 30 ml /314 mmol/ оцетен анхидрид. След нагряване в продължение на 4 часа при 100°C

се прибавя още 10 ml оцетен анхидрид. Нагриването се продължава допълнително за два часа. След отстраняване на нагриващата баня внимателно се прибавя около 25 ml етанол. Реакционната смес се охлажда до стайна температура и се обработва с етилацетат и вода. Органичният слой се промива два пъти с вода и се суши над магнезиев сулфат. След филтриране разтворителят се изпарява под вакуум. Към 18.23 g от светло кафявото твърдо вещество се прибавя 75 ml етанол и 80 ml 2N воден разтвор на натриев хидроксид. Тъмно червената суспензия се бърка в продължение на една нощ при стайна температура. След охлаждане до 0°C се прибавя 90 ml 2N воден разтвор на солна киселина. Твърдото вещество се филтрира и се промива двукратно с вода. След изсушаване при стайна температура и при нормално налягане се получава 16.5 g съединение /8/ във вид на оранжев прах.

Тънкослойна хроматография /елуенти: етилацетат/петролев етер с температура на кипене 40-65°C в обемно съотношение 50/50/: $R_f = 0.3$. Т.т.: 156-160°C.

/b/ Към разтвор на 8 g /34.5 mmol/ от съединение /8/ в смес от 80 ml толуен и 80 ml 1-метил-2-пиролидон се прибавя 5.6 g /40 mmol/ калиев карбонат на прах. Реакционната смес се бърка при температурата на кипене в продължение на един час под обратен хладник и водата се отстранява с помощта на апаратче на Дийн и Старк. Толуенът се отстранява чрез дестилация при атмосферно налягане. След охлаждане до 100°C се прибавя 9.3 g /41 mmol/ глицидилтозилат. Суспензията се бърка при 120°C в продължение на 4.5 часа и се охлажда до стайна температура. Реакционната смес се разрежда с вода и етилацетат и се довежда до pH 5 чрез подкисляване с 2N воден разтвор на солна киселина. Водният слой се екстрахира два пъти с етилацетат. Обединените органични слоеве се промиват с наситен воден раз-

твор на натриев хлорид и се сушат над магнезиев сулфат. След филтриране на магнезиевия сулфат и изпаряване на разтворителя във вакуум се получава 10.86 g тъмно кафяво масло. След пречистване чрез колонна хроматография под налягане /елуенти: етилацетат/петролев етер 40-65°C = 25/75 се получава 4.18 g от съединение /9/ във вид на червени пластинки. Т.т.: 76-84°C. Тънкослойна хроматография /виж по-горе/: $R_f = 0.15$.

/с/ Към суспензия от 3 g от съединение /9/ /10 mmol/ в смес от 100 ml метанол и 30 ml вода се прибавя прахообразен калиев карбонат - 1.44 g. След разбъркване при стайна температура в продължение на 1.5 часа, реакционната смес се обработва чрез разреждане с вода и се екстрахира два пъти с етилацетат. Обединените органични слоеве се промиват трикратно с разреден воден разтвор на натриев хлорид и се сушат над магнезиев сулфат. След филтриране на магнезиевия сулфат и изпаряване на разтворителя във вакуум се получават 2.53 g от съединение /10/, доказано чрез ЯМР, във вид на оранжево твърдо вещество.

Тънкослойна хроматография /етилацетат/петролев етер 40-65°C в обемно съотношение 75/25/: $R_f = 0.3$.

^1H -ЯМР: δ /ppm/ 6.99 /d, 1H, аром./; 6.90 /s, 1H, NH/; 6.88 /d, 1H, аром./; 5.02 /t, 1H, CH₂OH/; 4.19 /dd, 1H, OCH₂CH/; 4.11 /dd, 1H, OCH₂CH/; 3.40/3.50 /кластер, 3H, CHCH₂OH/.

Пример XIII

Разтвор от 0.35 M 6-хлоро-2,3-дихидро-8-нитро-1,4-бензоксазин-3-метанол, 0.6 M янтарен анхидрид и 3.3 % /тегло/обем/ липаза *Candida cylindracea* /Meito® MV/ в ТБМЕ/ацетонитрил/ вода в обемно съотношение 90/10/0.6 се подлага на инкубация при стайна температура и разбъркване. След превръщане на 47 % от алкохола /установено при използване на Zorbax C-8 колона/

реакцията се прекъсва чрез филтриране. Останалият непревърнат алкохол съдържа /+/енантиомер с енантиомерен излишък 39 % . /определен при използване на *Chiracel[®]-OD* колона/.

Пример XIV

Разтвор на 0.13 M 2,3-дихидро-7-нитро-1,4-бензодиоксин-2-метанол, 0.24 M маслен анхидрид и 25 % /тегло/обем/ липаза в диизопропилетер/ацетонитрил/вода в обемни съотношения 50/50/0.5 се подлага на инкубация при стайна температура и при разбъркване. След превръщане на 64 % от алкохола реакцията се спира чрез филтриране. Останалият алкохол съдържа /+/-енантиомер с енантиомерен излишък от 42.4 % .

Пример XV

Рацемизиране на /+/-2,3-дихидро-7-нитро-1,4-бензодиоксин-2-метанол

Към разтвор на 0.1 g /47 mmol/ /+/-2,3-дихидро-7-нитро-1,4-бензодиоксин-2-метанол / $[\alpha]_D^{20} = +65.5 /c=0.58, 96\%$ етанол/ в 15 ml етанол се прибавя 0.2 ml /40 mmol/ 2N воден разтвор на натриев хидроксид. След като се загрява при кипене под обратен хладник в продължение на 125 часа реакционната смес се охлажда до стайна температура. Реакционната смес се разрежда с вода и се екстрахира двукратно с етилацетат. Органичният слой се суши върху магнезиев сулфат. След отстраняване на магнезиевия сулфат чрез филтриране и изпаряване на разтворителя във вакуум се получава 0.1 g светло кафяв твърд материал. Въртът на специфично въртене /виж по-горе/ е 0. Анализът на енантиомерния излишък при използване на хирален α -гликопротеин /AGP/ в колоната показва, че енантиомерният излишък е = 0.

При използване на *n*-пропанол като разтворител времето за провеждане на реакцията е 30 часа.

Пример XVI

Рацемизиране на /+/-5-хлоро-2,3-дихидро-7-нитро-1,4-бензодиазепин-2-метанол

Към разтвор на 0.85 g /3.46 mmol / /+/-5-хлоро-2,3-дихидро-7-нитро-1,4-бензодиазепин-2-метанол / $[\alpha]_D^{20} = + 55 /c = 0.4$, етанол// в 80 ml етанол се прибавя 15 ml 2N воден разтвор на натриев хидроксид. След кипене под обратен хладник в продължение на 16 часа сместа се охлажда до стайна температура и се разработва по начина, описан в пример XV. Ъгълът на специфично въртене /виж по-горе/ на получения твърд материал е = 0. Хиралният анализ на Chiralcel-OD колона показва енантиомерен излишък = 0.

Пример XVII

Рацемизиране на /+/-6-хлоро-2,3-дихидро-8-нитро-1,4-бензодиазепин-3-метанол

Към разтвор на 2 g /8.18 mmol / /+/-6-хлоро-2,3-дихидро-8-нитро-1,4-бензодиазепин-3-метанол / $[\alpha]_D^{20} = + 14 /c = 0.71$, 96 % етанол// в 50 ml етанол се прибавя 2N воден разтвор на натриев хидроксид. След като сместа се оставя да кипи под обратен хладник в продължение на 3 часа към нея се прибавя ново количество от 1 ml 2N воден разтвор на натриев хидроксид. Тогава реакционната смес се оставя да кипи в продължение на 32 часа, оставя се да се охлади до стайна температура и се разрежда с воден разтвор на натриев хлорид. Водният слой се екстрахира двукратно с етилацетат. Обединените органични слоеве се промиват двукратно със разреден воден разтвор на натриев хлорид и се сушат с магнезиев сулфат. След отстраняване на магнезиевия сулфат чрез филтриране и изпаряване на разтворителя във вакуум се получава 1.83 g оранжево-кафяв твърд материал. Ъгълът на специфично въртене е 0 и при хирален анализ на Chiralcel-OD колона

се установява, че енантиомерният излишък е 0.

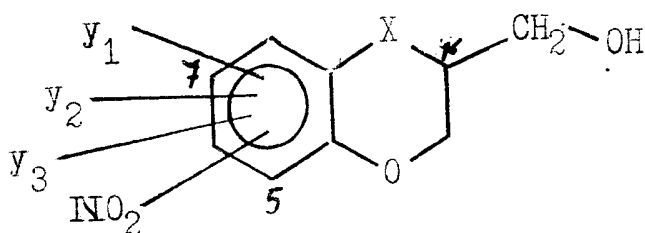
Пример XVIII

Рацемизиране с помощта на натриев хидрид

Към смес на 0.2 g /0.8 mmol/ R-/+/-BDA и 0.01 g /0.5 еквивалента/ 60 % суспензия на натриев хидрид в минерално масло се прибавя 5 ml диметилформамид /DMF/. След прекратяване на отделянето на газ оранжевият разтвор се бърка при стайна температура. Рацемизирането се извършва за 0.75 часа, което се установява чрез анализ с помощта на Chiracel-OD колона. При използване на тетраhydroфуран като разтворител, реакцията протича също така успешно.

ПАТЕНТНИ ПРЕТЕНЦИИ

1. Ензимен метод за стереоселективно получаване на енантиомер на хетеро-бицикличен алкохол, характеризиращ се с това, че по същество чист енантиомер на съединение с обща формула



в която X означава O, S, NH, N-/C₁-C₄/алкил или CH₂;

Y₁, Y₂ и Y₃ означават независимо един от друг водород или заместител, избран от групата, включваща халоген, C₁-C₄-алкил, C₁-C₄-алкокси, C₁-C₄-халоалкил, нитро и циано;

заместителят NO₂ е присъединен към бицикличния пръстен на 5^{то} или 7^{мо} място; и

хиралният C-атом има R или S конфигурация;

се получава от съотния му алкохолен рацемат чрез последователно провеждане на следните реакционни етапи:

/i/ ацилиране на рацемата с ацилиращ реагент, под въздействието на ензим, притежаващ стереоселективна естерифицираща активност;

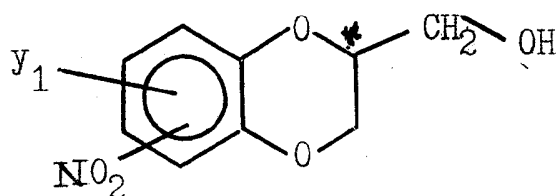
/ii/ отделяне на неестерифицираното съединение от получения естер и изолиране на желания чист по същество енантиомер на алкохол с формула I или на негов естер;

/iii/ подлагане на получения естер на хидролиза, при което той се превръща в съответния алкохолен енантиомер; и

/iv/ превръщане на нежелания алкохолен енантиомер в изходния алкохолен рацемат при алкални условия, така че той да може да се използва отново.

2. Метод, съгласно претенция 1, характеризиращ се с това, че реакционните етапи /iii/ и /iv/ се съчетават, като се използват достатъчно силни алкални условия, така че да се осъществи едновременно хидролиза на естера и рацемизиране на алкохолния енантиомер.

3. Метод, съгласно претенции 1 и 2, характеризиращ се с това, че по същество чист енантиомер на съединение с обща формула



в която Y_1 е водород или заместител, избран от групата включваща хлоро, флуоро или метил; заместителят NO_2 е присъединен на 5^{то} или 7^{мо} място в бицикличната пръстенова система; и C-атомът има R или S-конфигурация;

се получава при последователно провеждане на реакционните етапи, както са дефинирани в претенция 1.

4. Метод, съгласно всяка от претенции 1 до 3, характеризиращ се с това, че след провеждане на реакционния етап /i/ ензимът се регенерира, като се използва процедура, подходяща за тази цел.

5. Метод, съгласно всяка от претенции от 1 до 4, характеризиращ се с това, че като ацилиращ реагент се използва анхидрид на карбоксилна киселина.

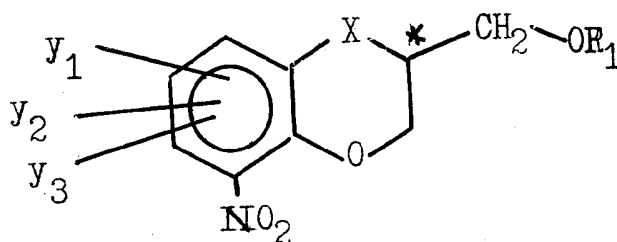
6. Метод, съгласно претенция 5, характеризиращ се с това, че като ацилиращ реагент се използва янтарен анхидрид или глута-

ров анхидрид.

7. Метод, съгласно всяка от претенции от 1 до 6, характеризира се с това, че като ензим се използва липаза или естераза, притежаващи стереоселективна естерифицираща активност.

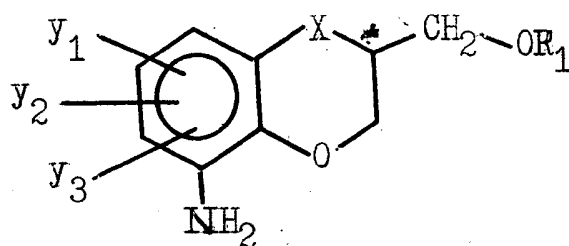
8. По същество чист алкохолен енантиомер с обща формула /I/, посочена в претенция 1, в която X и заместителите Y имат значенията, посочени в претенция 1, заместителят NO_2 е присъединен на 5^{то} или 7^{мо} място на бицикличната пръстенна система и C*-атомът има R конфигурация.

9. Използване на по същество чист енантиомер на алкохол с обща формула I, съгласно претенция 1, в която X и заместителите Y имат значенията, посочени в претенция 1, заместителят NO_2 е присъединен на 5^{то} място към бицикличната пръстенна система и C*-атомът има R конфигурация, за получаване на фармакологично активно пиперазиново производно, чрез подлагане на енантиомера на следните реакционни етапи:
/i/ защита на свободната хидроксигрупа с подходяща хидрокси-защитна група, при запазване на абсолютната конфигурация на C*-атома, до получаване на съединение с обща формула



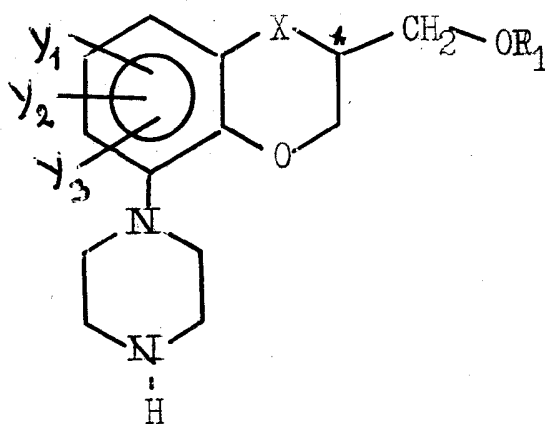
в която R_1 е хидрокси-защитна група;

/ii/ редукция на нитро заместителя по такъв начин, че по същество чистият енантиомер с формула III да се превърне в аминоксоединение с обща формула



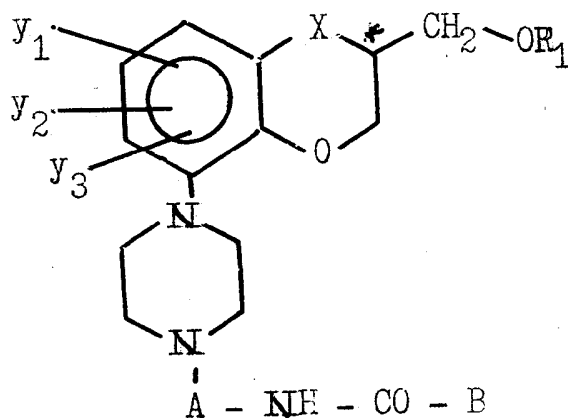
/IV/

при запазване на абсолютната конфигурация на C*-атома;
/iii/ превръщане на полученото по-горе amino съединение с формула IV в пиперазиново съединение с обща формула



/V/

при запазване на абсолютната конфигурация на C*-атома;
/iv/ превръщане на пиперазиновото съединение с формула V, при запазване на абсолютната конфигурация на C*-атома, в пиперазиново производно с обща формула

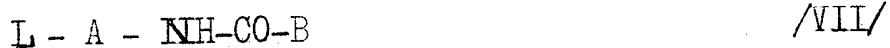


/vi/

в която А означава C₂-C₄-алкиленова група с права или

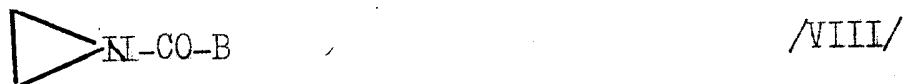
разклонена въглеродна верига и В е фенилна или хетероциклическа група, избрана от тиенил, пиранил, фурил, пиролил, пиридил и пиразинил, която група може да бъде заместена с един или повече заместители, избрани от халоген, C₁-C₃-алкил, C₁-C₃-халоалкил, циано, нитро, хидрокси, естерифицирана хидрокси и C₁-C₃-алкокси,

при взаимодействие на пиперазиновото съединение с формула V или /а/ със съединение с обща формула



в което L е отцепваща се група, за предпочитане избрана от хлоро, мезилат или тозилат, или

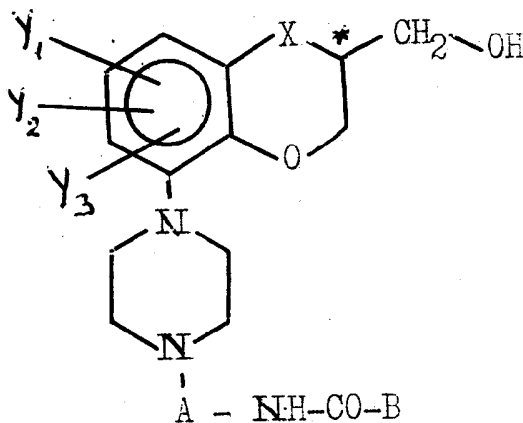
/б/ със съединение с обща формула



до получаване на пиперазиново производно с обща формула VI, в което А е етилен и накрая

/в/ отстраняване на защитната група от съединението с формула

V до свободен енантиомер на алкохола с обща формула



в която C* -атомът има R конфигурация.

10. По същество чист енантиомер с обща формула III, представена в претенция 9, в която X и заместителите Y имат значенията, определени в претенция 1 и конфигурацията на C^{*}-атома съответства на R конфигурацията на C^{*}-атома на съединение с формула I, представена в претенция 1.

11. По същество чист енантиомер с обща формула IV, посочена в претенция 9, в която X и заместителите Y имат значенията, определени в претенция 1 и конфигурацията на C^{*}-атома съответства на R конфигурацията на C^{*}-атома на съединение с формула I, посочена в претенция 1.

12. Метод за получаване на по същество чист енантиомер на пиперазиново съединение с обща формула IX, посочена в претенция 9, в която X и заместителите Y имат значенията, определени в претенция 1, A и B имат значенията, посочени в претенция 9 и C^{*} атомът има R конфигурация, характеризиращ се с това, че:

/a/ по същество чист енантиомер на алкохол с обща формула I, посочена в претенция 1, в която C^{*}-атомът има R конфигурация се получава от съответния му алкохолен рацемат, чрез последователно провеждане на реакционните етапи, които са посочени в претенция 1;

/b/ свободната хидроксилна група на получения алкохолен енантиомер се защитава с хидрокси-защитна група, при запазване на абсолютната конфигурация на C^{*}-атома, до получаване на съединение с обща формула III, посочена в претенция 9;

/c/ полученият по същество чист енантиомер се превръща в аминио съединение с обща формула IV, посочена в претенция 9, чрез редукция на нитро заместителя, при запазване на абсолютната конфигурация на C^{*}-атома;

/d/ полученото амино съединение се превръща в пиперазиново

съединение с обща формула V, посочена в претенция 9, при запазване на абсолютната конфигурация на C^{*}-атома;

/e/ пиперазиновото съединение се превръща в негово производно, при запазване на абсолютната конфигурация на C^{*}-атома, чрез взаимодействие със съединение с обща формула VII или VIII, представени в претенция 9, в които символите имат значенията, определени в претенция 9, до получаване на съединение с обща формула VI, посочена в претенция 9; и

/f/ от съединението с формула VI се отстранява защитната група до получаване на свободен енантиомер на алкохол с обща формула IX, представена в претенция 9, където символите имат значенията, определени в претенция 9, при запазване на R конфигурацията на C^{*}-атома.