

Цей винахід відноситься до нового способу одержання оптично активних проміжних сполук придатних для одержання S-циталопраму, який включає селективне ферментативне ацилювання або деацилювання.

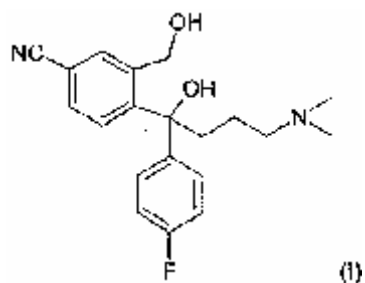
Циталопрам є відомим антидепресантом, що знаходиться на ринку вже протягом декількох років.

Він є селективним інгібітором зворотного захоплення серотоніну (5-гідрокси-триптаміну; 5-HT) центральної дії та, відповідно, має антидепресивну дію.

Циталопрам уперше був описаний у [DE 2657013], що відповідає [патенту США №4136193]. У зазначеній патентній публікації, серед іншого, в загальних рисах описано спосіб одержання циталопраму з відповідного 5-бромопохідного шляхом взаємодії з ціанідом міді(I) у підходящому розчиннику і шляхом алкілювання 5-бромофталану.

[Патент США №4943590, що відповідає EP-B1-347066], описує два способи одержання S-циталопраму (S-енантіомеру циталопраму).

Обидва процеси використовують рацемічний діол, що має формулу

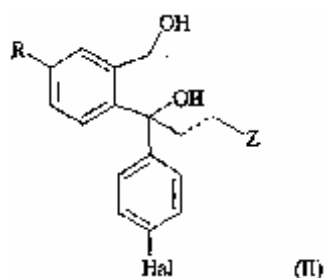


як початковий матеріал. Згідно з першим процесом діол формули (I) піддають реакції з енантімерно чистим кислотним похідним, таким як (+) або (-)- $\alpha$ -метокси- $\alpha$ -трифторметил-фенілацетилхлорид, з утворенням суміші діастереомерних естерів, які розділяють за допомогою ВЕРХ або фракційної кристалізації, після чого естер з правильною стереохімією енантіоселективно перетворюють в S-циталопрам. Згідно з другим процесом діол формули (I) розділяють на енантіомери за допомогою стереоселективної кристалізації енантімерно чистою кислотою, такою як (+)-ди-п-толуїлвинна кислота, після чого S-енантіомер діолу формули (I) енантіоселективно перетворюють в S-циталопрам.

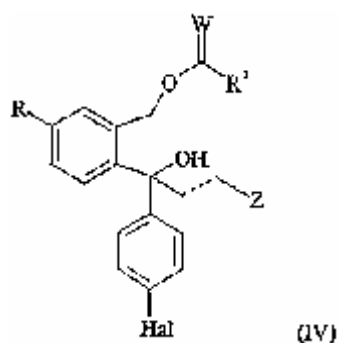
S-циталопрам в даний час розроблений як антидепресант. Внаслідок цього існує потреба в удосконаленому способі одержання S-циталопраму.

Тепер було знайдено, що S-енантіомер діолу формули (I), наведеної вище, а також і його ациловані похідні можуть бути одержані за допомогою селективного ферментативного ацилювання первинної гідроксильної групи в рацемічному діолі з одержанням S-діолу або його ацилованого похідного з високою оптичною чистотою, і далі, що одержані енантіомери можуть бути розділені за допомогою ряду операцій виділення і очищення.

Відповідно, цей винахід відноситься до нового процесу одержання S- або R-енантіомера діолу, що має формулу

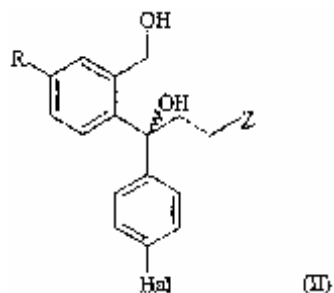


де R являє собою ціано або групу, яка може перетворюватися на ціаногрупу, Z являє собою групу  $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R}'\text{R}'')$ , де  $\text{R}'$  і  $\text{R}''$  являють собою  $\text{C}_{1-6}$ -алкіл, або  $\text{R}'$  і  $\text{R}''$  з'єднані один з одним з утворенням циклічної структури, що включає N-атом, до якого вони приєднані, або Z являє собою групу, яка може бути перетворена у диметиламінометильну групу, пунктирна лінія позначає подвійний або одинарний зв'язок, а Hal являє собою галоген, або його солі, та/або протилежного енантіомера ацилованого діолу, що має формулу

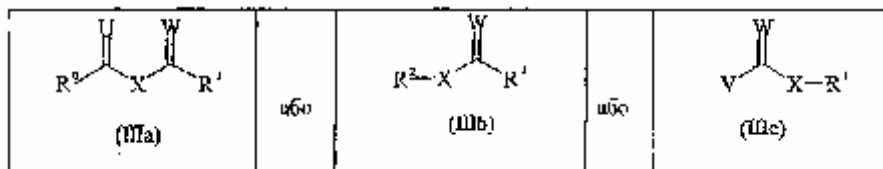


де R, Z, пунктирна лінія і Hal є такими, як визначено вище, W являє собою O або S, і R<sup>3</sup> являє собою -Y-R<sup>1</sup>, де R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-10</sub>-алкіл, C<sub>2-10</sub>-алкеніл або C<sub>2-10</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-10</sub>-алкокси, C<sub>1-10</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-10</sub>-алкіламіно, ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)аміно, арилу, арилокси, арилтію і гетероарилу, або R<sup>1</sup> являє собою арил, де будь-яка з арильних і гетероарильних груп може бути необов'язково заміщена один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-10</sub>-алкілу, C<sub>2-10</sub>-алкенілу, C<sub>2-10</sub>-алкінілу, C<sub>1-10</sub>-алкокси, C<sub>1-10</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-10</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)аміно, і Y являє собою зв'язок, O, S або NH, або його солі, що включає

а) піддавання рацемічної сполуки формули



де R, Z, пунктирна лінія і Hal є такими, як визначено вище, селективному ферментативному ацилюванню з використанням ацилюючого агента, що має формулу



або ізоціанату, що має формулу R<sup>1</sup>-N=C=O, або ізотіоціанату, що має формулу R<sup>1</sup>-N=C=S;

де X являє собою O або S; W являє собою O або S; U являє собою O або S, V являє собою галоген і

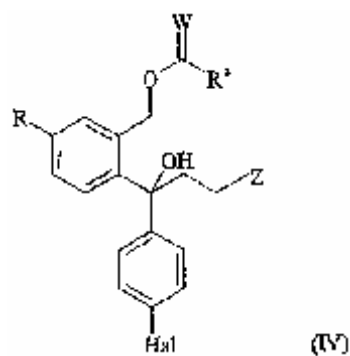
R<sup>0</sup> являє собою C<sub>1-10</sub>-алкіл, C<sub>2-10</sub>-алкеніл або C<sub>2-10</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-10</sub>-алкокси, C<sub>1-10</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-10</sub>-алкіламіно, ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)аміно, арилу, арилокси, арилтію і гетероарилу, або R<sup>0</sup> являє собою арил; де будь-яка з арильних і гетероарильних груп може бути необов'язково заміщена один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-10</sub>-алкілу, C<sub>1-10</sub>-алкенілу, C<sub>1-10</sub>-алкінілу, C<sub>1-10</sub>-алкокси, C<sub>1-10</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-10</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)аміно;

R<sup>1</sup> є таким, як визначено для R<sup>0</sup>;

R<sup>2</sup> є таким, як визначено для R<sup>0</sup>, або R<sup>2</sup> означає відповідну групу, яка вилучається;

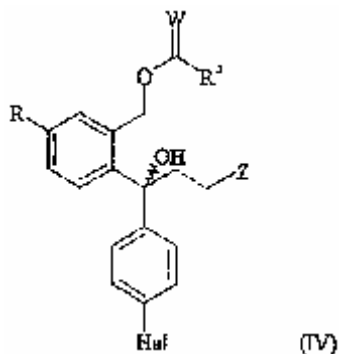
або R<sup>0</sup> і R<sup>1</sup> разом утворюють ланцюг з 3-5 атомів вуглецю;

за умови, що W і U не є S, коли X являє собою S; з утворенням суміші початкового матеріалу формули (II) в R- або S-формі та протилежного енантіомера ацилизованого діолу, що має формулу

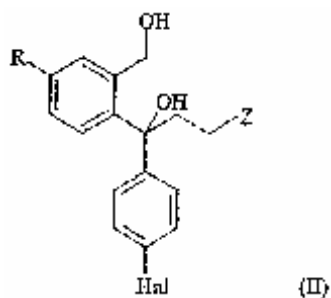


де R, W, Hal, R<sup>3</sup>, пунктирна лінія і Z є такими, як визначено вище; або

b) піддавання рацемічної сполуки формули



де R, Z, W, Hal, пунктирна лінія і R<sup>3</sup> є такими, як визначено вище; селективному ферментативному деацилюванню з утворенням суміші деацильованої сполуки формули



де R, Hal, пунктирна лінія і Z є такими, як визначено вище, в R- або S-формі та ацилизованого початкового матеріалу формули (IV) у формі протилежного енантіомера;

необов'язково з подальшим, у будь-якому порядку, виділенням S- або R-енантіомера сполуки формули (II) та/або протилежного енантіомера сполуки формули (IV) або солі вказаного.

Винахід відноситься також до способів розділення сумішей та відділення енантіомера формули (IV) від протилежного енантіомера формули (II) і до R- і S-енантіомерів сполуки формули (IV), наведеної вище.

Нарешті, винахід відноситься до способу одержання S-циталограму і рацемічного циталограму з енантіомерів сполуки формули (II), одержаних за допомогою селективного ферментативного ацилювання або деацилювання згідно з винаходом, або енантіомерів оптично активного ацильного похідного формули (IV), одержаних за допомогою селективного ферментативного ацилювання або деацилювання згідно з винаходом.

Використовувані тут у зв'язку із сполуками формули (II), (IV) і (V) терміни "енантіомер", "R-енантіомер", "S-енантіомер", "R-форма", "S-форма", "R-діол" і "S-діол" відносяться до орієнтації груп навколо атома вуглецю, до якого приєднана 4-Hal-фенільна група.

Таким чином, цей винахід згідно з одним варіантом здійснення відноситься до селективного ферментативного ацилювання, описаного вище, і згідно з ще одним варіантом здійснення - до селективного ферментативного деацилювання, описаного вище.

Селективне ферментативне ацилювання означає, що ферментативне ацилювання є переважно ефективним для перетворення одного з енантіомерів сполуки формули (II), переважно залишаючи інший енантіомер сполуки формули (II) неперетвореним в реакційній суміші.

Селективне ферментативне деацилювання означає, що ферментативне деацилювання є переважно ефективним для перетворення одного з енантіомерів сполуки формули (IV), переважно залишаючи інший енантіомер сполуки формули (IV) неперетвореним в реакційній суміші.

Селективне ацилювання згідно з винаходом дає таким чином в результаті суміш, що містить переважно сполуку формули (II) в S-формі та сполуку формули (IV) в R-формі, або воно може давати в результаті суміш, яка містить переважно сполуку формули (II) в R-формі та сполуку формули (IV) в S-формі.

Аналогічним чином, селективне ферментативне деацилювання може давати в результаті суміш, що містить переважно сполуку формули (IV) в S-формі та сполуку формули (II) в R-формі, або воно може давати в результаті суміш, яка містить переважно сполуку формули (IV) в R-формі та сполуку формули (II) в S-формі.

Склад суміші, одержаної після ацилювання або деацилювання згідно з винаходом, залежить від використовуваної конкретної гідролази та від умов, при яких здійснюється реакція. Характерною межею ферментативного процесу ацилювання/деацилювання згідно з винаходом є те, що перетворюється набагато більша частина одного енантіомера, ніж іншого. Оптична чистота діолу формули (II) та/або ацильованої сполуки формули (IV), одержана за допомогою способу оптичного розділення згідно з цим винаходом, складає звичайно принаймні 90% її, переважно принаймні 95% її, більш переважно принаймні 97% її, і найбільш переважно принаймні 98% її. Проте, прийнятними є й нижчі величини оптичної чистоти.

Початковим матеріалом для ферментативного способу за винаходом є рацемічний діол формули (II) або рацемічне ацильне похідне формули (IV).

У переважному варіанті здійснення винаходу R являє собою галоген або ціано, найбільш переважно ціано.

У подальшому переважному варіанті здійснення винаходу Hal являє собою фтор.

У подальшому варіанті здійснення винаходу пунктирна лінія у формулі (II) і (IV) є одинарним зв'язком.

Згідно з одним варіантом здійснення Z являє собою диметиламінометил або групу, яка може бути

перетворена в диметиламінометил. У відповідному варіанті здійснення Z являє собою диметиламінометил.

Найбільш переважно Hal являє собою фтор, R являє собою ціано, пунктирна лінія є одинарним зв'язком і Z являє собою диметиламінометил.

Ацилюючим агентом, використовуваним для ферментативного ацилювання згідно з винаходом, може бути відповідним чином одна із сполук формул (IIIa), (IIIb) і (IIIc).

Згідно з ще одним варіантом здійснення ацилюючим агентом, використовуваним згідно з винаходом, є будь-яка із сполук формул (IIIa) і (IIIb).

Згідно з наступним варіантом здійснення винаходу використовуваним ацилюючим агентом є сполука формули (IIIa).

Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу використовуваним ацилюючим агентом є сполука формули (IIIb).

Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу використовуваним ацилюючим агентом є сполука формули (IIIc).

Коли ацилюючим агентом є сполука формули (Шс), U відповідним чином являє собою O.

Коли ацилюючим агентом є будь-яка з вказаних вище сполук, W відповідним чином являє собою O.

Коли ацилюючим агентом є будь-яка з вказаних вище сполук, X відповідним чином являє собою O.

Відповідним чином замісники  $R^0$ ,  $R^1$  і  $R^2$  у будь-якому з ацилюючих агентів (IIIa), (IIIb) і (IIIc), визначених вище в будь-якому з варіантів здійснення, є наступними:  $R^0$ ,  $R^1$  і  $R^2$  незалежно вибрані з  $C_{1-6}$ -алкілу,  $C_{2-6}$ -алкенілу і  $C_{2-6}$ -алкінілу, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з  $C_{1-6}$ -алкокси,  $C_{1-6}$ -алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано,  $C_{1-6}$ -алкіламіно і ди-( $C_{1-6}$ -алкіл)аміно, або  $R^2$  означає відповідну групу, яка вилучається, таку як сукцинімідил, HOBT і pfp, або  $R^0$  і  $R^1$  разом утворюють ланцюг з 3-5 атомів вуглецю, більш відповідним чином  $R$ ,  $R^1$  і  $R^2$  незалежно вибрані з  $C_{1-4}$ -алкілу,  $C_{2-4}$ -алкенілу і  $C_{2-4}$ -алкінілу, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з  $C_{1-4}$ -алкокси,  $C_{1-4}$ -алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано,  $C_{1-4}$ -алкіламіно і ди-( $C_{1-4}$ -алкіл)аміно, або  $R^2$  означає відповідну групу, яка вилучається, таку як сукцинімідил, HOBT і pfp, або  $R^0$  і  $R^1$  разом утворюють ланцюг з 3-5 атомів вуглецю, більш переважно  $R$ ,  $R^1$  і  $R^2$  незалежно вибрані з  $C_{1-3}$ -алкілу,  $C_{2-3}$ -алкенілу і  $C_{2-3}$ -алкінілу, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з  $C_{1-3}$ -алкокси,  $C_{1-3}$ -алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано,  $C_{1-3}$ -алкіламіно і ди-( $C_{1-3}$ -алкіл)аміно, навіть більш переважно  $R^0$  і  $R^1$  являє собою  $C_{1-3}$ -алкіл, зокрема нерозгалужений  $C_{1-3}$ -алкіл, і  $R^2$  являє собою  $C_{1-3}$ -алкіл, заміщений один або більше разів галогеном, або  $R^2$  являє собою  $C_{1-3}$ -алкеніл.

Відповідним чином замісники  $R^0$  і  $R^1$  у ацилюючих агентах формули (IIIa), визначених вище в будь-якому з варіантів здійснення, є наступними:  $R^0$  і  $R^1$  незалежно вибрані з  $C_{1-6}$ -алкілу,  $C_{2-6}$ -алкенілу і  $C_{2-6}$ -алкінілу, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з  $C_{1-6}$ -алкокси,  $C_{1-6}$ -алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано,  $C_{1-6}$ -алкіламіно і ди-( $C_{1-6}$ -алкіл)аміно, більш відповідним чином  $R^0$  і  $R^1$  незалежно вибрані з  $C_{1-6}$ -алкілу,  $C_{2-4}$ -алкенілу і  $C_{2-4}$ -алкінілу, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з  $C_{1-4}$ -алкокси,  $C_{1-4}$ -алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано,  $C_{1-4}$ -алкіламіно і ди-( $C_{1-4}$ -алкіл)аміно, переважно  $R^0$  і  $R^1$  незалежно вибрані з  $C_{1-3}$ -алкілу,  $C_{2-3}$ -алкенілу і  $C_{2-3}$ -алкінілу, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з  $C_{1-3}$ -алкокси,  $C_{1-3}$ -алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано,  $C_{1-3}$ -алкіламіно і ди-( $C_{1-3}$ -алкіл)аміно, більш переважно  $R^0$  і  $R^1$  являють собою незалежно  $C_{1-4}$ -алкіл, і найбільш переважно  $R^0$  і  $R^1$  являє собою  $C_{1-3}$ -алкіл, зокрема нерозгалужений  $C_{1-3}$ -алкіл, відповідним чином пропіл.

Відповідним чином замісники  $R^1$  і  $R^2$  у ацилюючих реагентах формули (ШБ), визначеної вище в будь-якому з варіантів здійснення, є наступними:  $R^1$  і  $R^2$  незалежно вибрані з  $C_{1-6}$ -алкілу,  $C_{2-6}$ -алкенілу і  $C_{2-6}$ -алкінілу, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з  $C_{1-6}$ -алкокси,  $C_{1-6}$ -алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано,  $C_{1-6}$ -алкіламіно і ди-( $C_{1-6}$ -алкіл)аміно, або  $R^2$  означає відповідну групу, яка вилучається, таку як сукцинімідил, HOBT і pfp, більш відповідним чином  $R^1$  і  $R^2$  незалежно вибрані з  $C_{1-4}$ -алкілу,  $C_{2-4}$ -алкенілу і  $C_{2-4}$ -алкінілу, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з  $C_{1-4}$ -алкокси,  $C_{1-4}$ -алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано,  $C_{1-4}$ -алкіламіно і ди-( $C_{1-4}$ -алкіл)аміно, або  $R^2$  означає відповідну групу, яка вилучається, таку як сукцинімідил, HOBT і pfp, переважно  $R^1$  вибраний з  $C_{1-3}$ -алкілу,  $C_{2-3}$ -алкенілу і  $C_{2-3}$ -алкінілу, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з  $C_{1-3}$ -алкокси,  $C_{1-3}$ -алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано,  $C_{1-3}$ -алкіламіно і ди-( $C_{1-3}$ -алкіл)аміно, а  $R^2$  являє собою  $C_{1-4}$ -алкіл, заміщений один або більше разів галогеном, або  $R^2$  являє собою  $C_{2-4}$ -алкеніл, або  $R^2$  означає відповідну групу, яка вилучається, таку як сукцинімідил, HOBT і pfp, більш переважно R являє собою  $C_{1-3}$ -алкіл,  $C_{2-3}$ -алкеніл або  $C_{2-3}$ -алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з  $C_{1-3}$ -алкокси,  $C_{1-3}$ -алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано,  $C_{1-3}$ -алкіламіно і ди-( $C_{1-3}$ -алкіл)аміно, а R являє собою  $C_{1-3}$ -алкіл, заміщений один або більше разів галогеном, або  $R^2$  являє собою  $C_{2-3}$ -алкеніл, і більш переважно  $R^1$  являє собою  $C_{1-3}$ -алкіл, заміщений один або більше разів галогеном, або  $R^2$  являє собою  $C_{2-3}$ -алкеніл, і більш відповідним чином  $R^1$  являє собою  $C_{1-3}$ -алкіл, зокрема нерозгалужений  $C_{1-3}$ -алкіл, такий як метил, етил або пропіл, а  $R^2$  являє собою  $C_{2-3}$ -алкеніл.

$R^2$ , який означає  $C_{1-3}$ -алкіл, заміщений один або більше разів галогеном, являє собою відповідну групу, що вилучається, включаючи такі групи, як 2,2,2-трихлоретил і 2,2,2-трифторетил, зокрема 2,2,2-трифторетил.

У конкретному варіанті здійснення винаходу ацилюючим агентом формули (IIIb), наведеної вище, є сполука, в якій  $R^2$  являє собою вініл.

Згідно з ще одним конкретним варіантом здійснення винаходу, ацилюючим агентом формули (IIIb) є сполука, яка наведена вище, в якій  $R^1$  являє собою пропіл. Цей конкретний варіант здійснення винаходу охоплює переважний ацилюючий агент винаходу, а саме вінілбутират.

Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу ацилюючим агентом є сполука формули (IIIc).

Відповідним чином замісниками  $R^1$  у сполуці формули (IIIc), як визначено у будь-якому з варіантів здійснення винаходу, вказаному вище, є наступні:  $R^1$  являє собою  $C_{1-6}$ -алкіл,  $C_{2-6}$ -алкеніл і  $C_{2-6}$ -алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з  $C_{1-6}$ -алкокси,  $C_{1-6}$ -алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано,  $C_{1-6}$ -алкіламіно і ди-( $C_{1-6}$ -алкіл)аміно, більш відповідним чином  $R^1$  незалежно вибрані з  $C_{1-6}$ -алкілу,  $C_{2-4}$ -алкенілу і  $C_{2-4}$ -алкінілу, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з  $C_{1-4}$ -алкокси,  $C_{1-4}$ -алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано,  $C_{1-4}$ -алкіламіно і ди-( $C_{1-4}$ -алкіл)аміно, більш відповідним чином  $R^1$  незалежно вибрані з  $C_{1-6}$ -алкілу,  $C_{2-4}$ -алкенілу і  $C_{2-4}$ -алкінілу, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з  $C_{1-4}$ -алкокси,  $C_{1-4}$ -алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано,  $C_{1-4}$ -алкіламіно і ди-( $C_{1-4}$ -алкіл)аміно, більш відповідним чином  $R^1$  незалежно вибрані з  $C_{1-3}$ -алкілу,  $C_{2-3}$ -алкенілу і  $C_{2-3}$ -алкінілу, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з  $C_{1-3}$ -алкокси,  $C_{1-3}$ -алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано,  $C_{1-3}$ -алкіламіно і ди-( $C_{1-3}$ -алкіл)аміно, більш переважно  $R^0$  і  $R^1$  являють собою незалежно  $C_{1-4}$ -алкіл, і найбільш переважно  $R^0$  і  $R^1$  являє собою  $C_{1-3}$ -алкіл, зокрема нерозгалужений  $C_{1-3}$ -алкіл, відповідним чином пропіл.

6-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-6</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-6</sub>-алкіл)-аміно, більш відповідним чином R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-4</sub>-алкіл, C<sub>2-4</sub>-алкеніл і C<sub>2-4</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-4</sub>-алкокси, C<sub>1-4</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-4</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-4</sub>-алкіл)аміно, переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-3</sub>-алкіл, C<sub>2-3</sub>-алкеніл або C<sub>2-3</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів C<sub>1-3</sub>-алкокси, C<sub>1-3</sub>-алкілтію, гідрокси, галогеном, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-3</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-3</sub>-алкіл)аміно, більш переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-3</sub>-алкіл, C<sub>2-3</sub>-алкеніл або C<sub>2-3</sub>-алкініл, більш відповідним чином R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-3</sub>-алкіл, зокрема нерозгалужений C<sub>1-3</sub>-алкіл, такий як метил, етил або пропіл.

У відповідним чином являє собою хлор.

Ацилюючим агентом, використовуваним згідно з винаходом, може бути також ізоціанат формули R<sup>1</sup>-N=C=O або ізотіоціанат формули R<sup>1</sup>-N=C=S.

Таким чином, в подальшому варіанті здійснення винаходу ацилюючим агентом є ізотіоціанат формули R<sup>1</sup>-N=C=S.

Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу ацилюючим агентом є ізоціанат формули R<sup>1</sup>-N=C=O.

Відповідним чином замісниками R<sup>1</sup> у ізоціанаті та ізотіоціанаті, визначених в будь-якому з варіантів здійснення вище, є наступні:

R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-6</sub>-алкіл, C<sub>2-6</sub>-алкеніл або C<sub>2-6</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-6</sub>-алкокси, C<sub>1-6</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-4</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-6</sub>-алкіл)-аміно, більш відповідним чином R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-4</sub>-алкіл, C<sub>2-4</sub>-алкеніл або C<sub>2-4</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-4</sub>-алкокси, C<sub>1-4</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-4</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-4</sub>-алкіл)аміно, переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-3</sub>-алкіл, C<sub>2-3</sub>-алкеніл або C<sub>2-3</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-3</sub>-алкокси, C<sub>1-3</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-3</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-3</sub>-алкіл)аміно, більш переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-3</sub>-алкіл, C<sub>2-3</sub>-алкеніл або C<sub>2-3</sub>-алкініл, і більш переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-3</sub>-алкіл, зокрема нерозгалужений C<sub>1-3</sub>-алкіл, такий як метил, етил або пропіл.

Винахід охоплює також спосіб селективного ферментативного деацилювання рацемічної сполуки формули (IV), визначеної вище.

Відповідним чином використовуваною рацемічною сполукою формули (IV) є сполука, в якій Y являє собою O або S.

Згідно з подальшим варіантом здійснення, використовуваною рацемічною сполукою формули (IV) є сполука, в якій Y являє собою O.

У ще одному варіанті здійснення винаходу, використовуваною рацемічною сполукою формули (IV) є сполука, в якій Y являє собою S.

У ще одному варіанті здійснення винаходу, використовуваною рацемічною сполукою формули (IV) є сполука, в якій Y являє собою зв'язок.

Відповідним чином замісником R<sup>1</sup> у рацемічній сполуці (IV), як визначено вище в будь-якому з варіантів здійснення, є наступні: C<sub>1-10</sub>-алкіл, C<sub>2-10</sub>-алкеніл або C<sub>2-10</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-10</sub>-алкокси, C<sub>1-10</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-10</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)аміно, більш відповідним чином R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-10</sub>-алкіл, C<sub>2-10</sub>-алкеніл або C<sub>2-10</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними із гідрокси, галогену, аміно, нітро та ціано, переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-10</sub>-алкіл, переважно нерозгалужений C<sub>1-10</sub>-алкіл, а більш переважно R<sup>1</sup> являє собою нерозгалужений C<sub>4-10</sub>-алкіл.

Згідно з винаходом селективне ферментативне ацилювання здійснюють в умовах, що по суті пригнічують гідроліз. Гідроліз, який є зворотною реакцією до реакції ацилювання, відбувається, якщо в реакційній системі присутня вода.

Таким чином, селективне ферментативне ацилювання переважно здійснюється у вільному від води органічному розчиннику або майже безводному органічному розчиннику (ферменти звичайно вимагають присутність деякої кількості води, щоб бути активними). Приклади нижче ілюструють, як додавання води впливає на перетворення. Відсотковий вміст води, допустимий в конкретній реакційній системі, може бути визначений особою, кваліфікованою в даній галузі.

Органічний розчинник, який може використовуватися для реакції ацилювання, не є особливо важливим до тих пір, поки він не дезактивує використовуваний фермент. Відповідні розчинники включають вуглеводні, такі як гексан, гептан, бензол і толуол; етери, такі як діетиловий ефір, діізопропіловий ефір, тетрагідрофуран, 1,4-діоксан, трет-бутилметиловий ефір і диметоксетан; кетони, такі як ацетон, діетилкетон, бутанон і метил етил кетон; естери, такі як метилацетат, етилацетат, етилбутират, вінілбутират і етилбензоат; галогеновані вуглеводні, такі як метиленхлорид, хлороформ і 1,1,1-трихлоретан; вторинні та третинні спирти, такі як трет-бутанол; азотовмісні розчинники, такі як диметилформамід, ацетоамід, формамід, ацетонітрил і пропіонітрил; і апротонні полярні розчинники, такі як диметилсульфоксид, N-метилпіролідон і гексаметилфосфорний триамід.

Серед них віддають перевагу вуглеводням, таким як гексан, гептан, бензол і толуол, етерам, таким як діетиловий ефір, діізопропіловий ефір, 1,4-діоксан і трет-бутилметиловий ефір, та естерам, таким як вінілбутират. Для одних ферментів найбільш переважними розчинниками можуть бути ароматичні вуглеводні, такі як бензол або толуол, і етери, найбільш переважно толуол, а для іншого ферменту найбільш переважними розчинниками можуть бути етери, такі як 1,4-діоксан (див. приклади нижче). Вказані вище розчинники можуть використовуватися поодиночі або в поєднанні двох або більше розчинників.

Концентрація рацемічного діюлю формули (II) і ацилюючого агента не повинна бути дуже високою, оскільки висока концентрація реагентів в розчиннику може привести до неселективного ацилювання рацемічного діюлю. Відповідною концентрацією рацемічного діюлю і ацилюючого реагенту є, кожна, нижча за 1,0М, більш відповідною - нижча за 0,5М, навіть більш відповідною - нижча за 0,2М або навіть ще більш відповідною - нижча за 0,1М. Кваліфікований фахівець в даній галузі зможе визначити оптимальну концентрацію рацемічного діюлю і ацилюючого агента.

Селективне ферментативне деацилювання переважно здійснюють у воді або суміші води і органічного

розчинника, відповідним чином у присутності буфера. Органічний розчинник, який може використовуватися в реакції, не особливо важливий до тих пір, поки він не дезактивує використовуваний фермент. Відповідними органічними розчинниками є розчинники, що змішуються з водою, такі як спирти, ацетонітрил, ДМФ, ДМСО, діоксан, ДМЕ і диглім. Кваліфікований фахівець може визначити інші відповідні розчинники. Кваліфікований фахівець в даній галузі може визначити оптимальну концентрацію рацемічної сполуки формули (IV), використовуваної в реакції.

Стереоселективність використовуваного ферменту може бути збільшена шляхом здійснення ацилювання або деацилювання у присутності органічної кислоти та/або органічної основи.

Відповідно, цей винахід відноситься також до процесу, в якому ферментативне ацилювання або ферментативне деацилювання здійснюють у присутності органічної основи або органічної кислоти або їх суміші.

У конкретному варіанті здійснення винахід відноситься до процесу, в якому ферментативне ацилювання або ферментативне деацилювання здійснюють в присутності органічної кислоти, відповідної органічній карбоновій кислоті.

Згідно з подальшим варіантом здійснення ферментативне ацилювання здійснюють в присутності органічної кислоти, відповідної органічній карбоновій кислоті.

Згадану вище відповідною органічною кислотою є ароматична карбонова кислота або аліфатична карбонова кислота.

Як органічні кислоти, що можуть використовуватися в реакції, можуть бути згадані алкілкарбонові кислоти, циклоалкілкарбонові кислоти, циклоалкілалкілкарбонові кислоти, необов'язково заміщені фенілалкілкарбонові та необов'язково заміщені фенілкарбонові кислоти. Відповідними аліфатичними карбоновими кислотами є карбонові кислоти, такі як мурашина, оцтова, пропіонова, н-масляна, ізомасляна кислота, 2-етилмасляна кислота, н-валеріанова, ізовалеріанова, півалінова (триметилцтова), н-капронова, ізокапронова, деканова, кротонова, пальмітинова, циклопентанкарбонова, циклогексанкарбонова кислота, феніл-С<sub>1-4</sub>-алкілкарбонові кислоти, такі як 3-феніл-пропіонова кислота, 4-фенілмасляна кислота, щавлева кислота, малінова і винна кислота. Відповідні ароматичні карбонові кислоти включають такі кислоти, як, наприклад, бензойна, п-хлорбензойна, п-нітробензойна, п-метоксibenзойна, п-толуїлова, о-толуїлова, м-толуїлова, нафтоїна, фталева і терефталева кислота, саліцилова, гідрокорична кислота.

Таким чином, згідно з одним варіантом здійснення винаходу органічну кислоту, використовувану для поліпшення стереоселективності ферменту, вибирають з н-пропіонової, ізопропіонової, н-масляної, ізомасляної, ізовалеріанової, 2-етилмасляної, кротонової, пальмітинової, циклогексанкарбонової, півалінової, бензойної, п-толуїлової, саліцилової і 3-фенілпропіонової кислоти. Згідно з наступним варіантом здійснення винаходу використовуваною карбоною кислотою є півалінова кислота.

Кількість використовуваної органічної кислоти особливо не обмежується, але молярне відношення щодо субстрату складає звичайно 0,1-10, переважно 1,0-3,0, і більш переважно 1,0-2,0.

Альтернативно, для поліпшення селективності ферменту може використовуватися третинний амін або один, або разом з будь-якою з вищезгаданих органічних кислот. Як відповідна органічна основа можуть бути згадані триетиламін, піридин, 4-диметил-амінопіридин, і піридину віддається перевага. Відповідними комбінаціями органічної кислоти і органічної основи є, наприклад, бензойна кислота та піридин.

Кількість використовуваного третинного аміну особливо не обмежується, і звичайно молярне відношення щодо субстрату складає 0,5-3,0, і переважно 0,5-2,0.

Ферментативне ацилювання або деацилювання згідно з винаходом здійснюється з використанням гідролази, такої як ліпаза, естераза, ацилаза або протеаза.

Таким чином, згідно з одним варіантом здійснення винаходу ферментативне ацилювання проводять гідролазою, такою як ліпаза, естераза, ацилаза або протеаза. Придатними ферментами згідно з винаходом є такі ферменти, які здатні до проведення R-селективного ацилювання або S-селективного ацилювання первинної гідроксигрупи в рацемічній сполуці формули (II).

Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу ферментативне деацилювання проводиться гідролазою, такою як ліпаза, естераза, ацилаза або протеаза. Придатними ферментами згідно з винаходом є такі ферменти, які здатні до проведення R-селективного деацилювання або S-селективного деацилювання ацильної групи в рацемічній сполуці формули (IV).

У використовуваному тут сенсі термін "гідролаза" і "фермент" або взагалі, або у відношенні до конкретного ферменту означає не тільки фермент сам по собі, але також культурні продукти, що містять фермент, такі як культуральна рідина, що містить клітинне тіло, або культурне клітинне тіло, і перероблений продукт культурного продукту (наприклад, сирий або неочищений екстракт, висушені виморожуванням мікроорганізми або клітини, висушені ацетоном мікроорганізми або клітини, подрібнений продукт таких мікроорганізмів або клітин тощо).

Додатково, "фермент" або "гідролаза" можуть бути іммобілізовані за допомогою відомих прийомів у вигляді самого ферменту або у вигляді клітинного тіла, і можуть використовуватися в іммобілізованій формі. Іммобілізація може здійснюватися за способами, відомими фахівцям в даній галузі, такі способи включають, наприклад, зв'язування з носієм, зшивання з полімером, інкапсулювання тощо.

Таким чином, згідно з одним варіантом здійснення винаходу, гідролазу використовують у формі іммобілізованого ферменту або ферментів Cross-Linked Enzyme Crystal (CLEC).

Було виявлено, що ферментативне ацилювання згідно з винаходом може здійснюватися з використанням Novozyme 435 від *Candida antarctica*, LipoZyme TL IM від *Thermomyces lanuginosus* або Lipoprotein Lipase *Pseudomonas* sp. (ліпопротеїдліпаза, виділена з *Pseudomonas cepacia* і одержана від Fluka), і особливо добрі результати були одержані, коли використовувалися Novozyme 435 від *Candida antarctica* або Lipoprotein Lipase *Pseudomonas* sp.

Таким чином, згідно з одним варіантом здійснення винаходу, використовуваним ферментом є ліпопротеїдліпаза *Pseudomonas* sp., ліпаза B *Candida antarctica* B або ліпаза *Thermomyces lanuginosus*.

Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу використовуваним ферментом є ліпопротеїдліпаза *Pseudomonas* sp. або ліпаза B *Candida antarctica*.

Як згадувалося вище, використання одного із згаданих вище ферментів згідно з винаходом охоплює

також використання культурних продуктів, що містять фермент, таких як культуральна рідина, що містить клітинні тіла, або культурні клітинні тіла, переробленого продукту культурного продукту і будь-яких іммобілізованих форм цих ферментів/культурних продуктів.

Використання будь-якого з конкретно згаданих вище ферментів згідно з винаходом охоплює також використання мутантів, варіантів або будь-яких еквівалентів конкретно згаданих вище ферментів, які здатні до проведення селективного ацилювання або деацилювання згідно з винаходом. Їх варіанти або еквіваленти можуть бути виділені з різноманітних штамів *Pseudomonas*, *Candida* або *Thermomyces* або з будь-якого іншого джерела, або вони можуть бути одержані за допомогою мутації ДНК, що кодує згадані вище ферменти, що призводить до варіацій в амінокислотному складі ферменту. Відповідними мутантами або варіантами згаданих вище ферментів є варіанти і мутанти, в яких одні амінокислоти видалені або замінені іншими амінокислотами, а відповідна амінокислотна послідовність варіанта або мутанта є більш ніж на 60% ідентичною, переважно більш ніж на 80% та найбільш переважно більш ніж на 90% ідентичною вищезазначеним ферментам.

Таким чином, згідно з одним варіантом здійснення винаходу, використовуваним ферментом є ліпопротеїдліпаза *Pseudomonas* sp. або її мутант або варіант. Переважно використовують ліпопротеїдліпазу *Pseudomonas* sp.

Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу, використовуваним ферментом є ліпаза B *Candida antarctica* або її мутант або варіант. Переважно використовують ліпазу B *Candida antarctica*.

Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу, ферментом є Novozyme®435 (ліпаза B *Candida antarctica*, іммобілізована на акриловій смолі, доступна від компанії Novozymes A/S).

Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу, використовуваним ферментом є ліпаза *Thermomyces lanuginosus* або її мутант або варіант. Переважно використовуваним ферментом є ліпаза *Thermomyces lanuginosus*.

Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу, використовуваним ферментом є Lipozyme TL IM, також доступний від компанії Novozymes A/S).

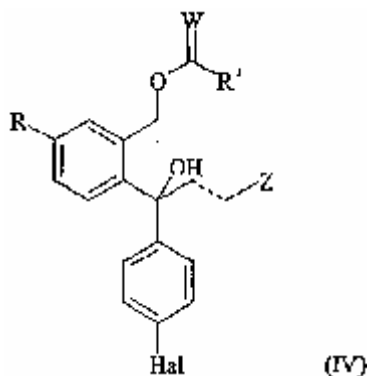
Переважні реакційні умови для ферментативного ацилювання/деацилювання розрізняються залежно від використовуваного конкретного ферменту, чи є він іммобілізованим чи ні, тощо.

Відповідна температура для реакції знаходиться між 0-80°C, більш переважно між 20-60°C або більш переважно між 30-50°C.

Кількість використовуваного ферменту конкретно не обмежується, і звичайно вона складає 0,01-1,0, переважно 0,02-0,5 і більш переважно 0,02-0,3 як відношення до субстрату, за масою.

Реакція може здійснюватися як періодичний процес або вона може здійснюватися як безперервний процес. Фермент може використовуватися в безлічі порцій повторно або безперервно. Час реакції особливо не обмежується і залежить від використовуваного ферменту і масштабу та типу способу виробництва (періодичного або безперервного).

Цей винахід відноситься також до S- або R-енантіомерів сполук, що мають загальну формулу (IV)



де R, Hal, R<sup>1</sup>, W, пунктирна лінія і Z є такими, як визначено вище, або їх солей.

Згідно з одним варіантом здійснення винаходу оптично активним ацильним похідним, згаданим вище, є S-енантіомер. Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу оптично активним ацильним похідним, згаданим вище, є R-енантіомер.

Згідно з одним варіантом здійснення винаходу R- або S-енантіомером, згаданим вище, є сполука, в якій R являє собою галоген або ціано, переважно R являє собою ціано.

Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу R- або S-енантіомером, згаданим вище, є сполука, в якій Hal являє собою фтор.

Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу R- або S-енантіомером, згаданим вище, є сполука, де пунктирна лінія є одинарним зв'язком.

Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу R- або S-енантіомером, згаданим вище, є сполука, в якій Z являє собою диметиламінометил або групу, яка може перетворюватися в диметиламінометил, більш переважно Z являє собою диметиламінометил, а інші замісники є такими, як визначено вище.

Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу R- або S-енантіомером, згаданим вище, є сполука, в якій Z являє собою диметиламінометил, Hal являє собою фтор, пунктирна є одинарним зв'язком, а R являє собою ціано або галоген, переважно ціано.

Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу R- або S-енантіомером, згаданим вище, є сполука, в якій Y являє собою O або S, переважно Y являє собою O, а інші замісники є такими, як визначено вище. Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу R- або S-енантіомером, згаданим вище, є сполука, в якій Y являє собою S, а інші замісники є такими, як визначено вище.

Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу R- або S-енантіомером, згаданим вище, є сполука,

в якій Y являє собою зв'язок, а інші замісники є такими, як визначено вище.

Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу R- або S-енантіомером, згаданим вище, є сполука, в якій Y являє собою NH, а інші замісники є такими, як визначено вище.

Відповідним чином R- або S-енантіомером, визначеним в будь-якому з варіантів здійснення, описаних вище, є сполука, в якій R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-6</sub>-алкіл, C<sub>2-6</sub>-алкеніл або C<sub>2-6</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-6</sub>-алкокси, C<sub>1-6</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-6</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-6</sub>-алкіл)аміно, більш відповідним чином R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-4</sub>-алкіл, C<sub>2-4</sub>-алкеніл або C<sub>2-4</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-4</sub>-алкокси, C<sub>1-4</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-4</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-4</sub>-алкіл)аміно, переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-3</sub>-алкіл, C<sub>2-3</sub>-алкеніл або C<sub>2-3</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-3</sub>-алкокси, C<sub>1-3</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-3</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-3</sub>-алкіл)аміно, і найбільш переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-3</sub>-алкіл, зокрема нерозгалужений C<sub>1-3</sub>-алкіл.

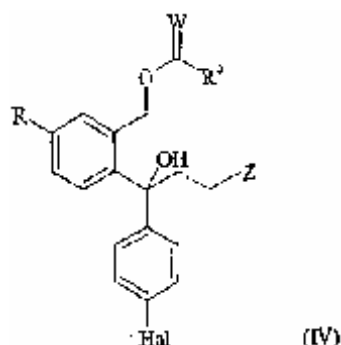
Згідно з ще одним відповідним варіантом здійснення винаходу R- або S-енантіомером, визначеним в будь-якому з варіантів здійснення, описаних вище, є сполука, в якій R<sup>1</sup> має наступні значення: C<sub>1-10</sub>-алкіл, C<sub>2-10</sub>-алкеніл або C<sub>2-10</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-10</sub>-алкокси, C<sub>1-10</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-6</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)аміно, більш переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-10</sub>-алкіл, C<sub>2-10</sub>-алкеніл або C<sub>2-10</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з гідрокси, галогену, аміно, нітро і ціано, переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-10</sub>-алкіл, переважно нерозгалужений C<sub>1-10</sub>-алкіл, і найбільш переважно R<sup>1</sup> являє собою нерозгалужений C<sub>4-10</sub>-алкіл.

Після завершення реакції ацилювання або реакції деацилювання енантіомер діольного похідного, представленого формулою (II), одержують як суміш з протилежним енантіомером сполуки формули (IV). Дана реакційна суміш потім необов'язково відділяється від ферменту.

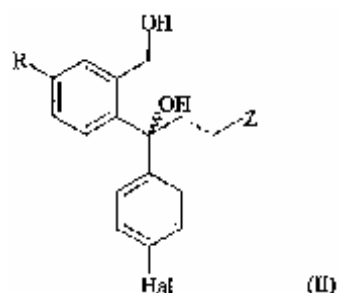
Для того, щоб одержати бажаний енантіомер формули (II) і/або (IV) з високою хімічною чистотою, необхідно ефективним чином відділити його від протилежного енантіомера формули (IV) і (II), відповідно. Проте, важко ефективно розділити енантіомери за допомогою загальновідомих методів, тому що структура ацильного похідного формули (IV) є близько подібною до структури діолу формули (II).

Винахідники цього винаходу провели інтенсивні дослідження і в результаті виявили, що енантіомер сполуки формули (II) у формі солі з кислотою ефективно поширюється у водний шар, а протилежний енантіомер сполуки формули (IV) у формі солі з кислотою ефективно поширюється в органічний шар, коли реакційна суміш обробляється змішаним розчинником, що містить органічний розчинник і воду, у присутності кислоти.

Таким чином, згідно з ще одним варіантом здійснення винахід відноситься до способу виділення і очищення ацильного похідного, такого, що має формулу



де R являє собою ціано або групу, яка може перетворюватися на ціаногрупу, Hal являє собою галоген, пунктирна лінія позначає подвійний або одинарний зв'язок, а Z являє собою групу -CH<sub>2</sub>-N(R'R''), у якій R' і R'' являють собою C<sub>1-6</sub>-алкіл, або R' і R'' з'єднані один з одним з утворенням циклічної структури, що включає N-атом, до якого вони приєднані, або Z являє собою групу, яка може перетворюватися на диметиламінометильну групу, W являє собою O або S, і R<sup>3</sup> являє собою -Y-R<sup>1</sup>, де Y являє собою зв'язок, O, S або NH, і R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-10</sub>-алкіл, C<sub>2-10</sub>-алкеніл або C<sub>2-10</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені одним або більш замісниками, вибраними з C<sub>1-10</sub>-алкокси, C<sub>1-10</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-10</sub>-алкіламіно, ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)аміно, арилу, арилокси, арилтію і гетероарилу, або R<sup>1</sup> являє собою арил, де будь-яка з арильних і гетероарильних груп може бути необов'язково заміщена один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-10</sub>-алкілу, C<sub>2-10</sub>-алкенілу, C<sub>2-10</sub>-алкінілу, C<sub>1-10</sub>-алкокси, C<sub>1-10</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-10</sub>-алкіламіно, ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)аміно, або його солі та/або діолу формули





де R, Hal, пунктирна лінія і Z є такими, як визначено вище, або його солі з суміші, що містить сполуку формули (IV) і діол формули (II), який включає:

а) обробку суміші, що містить ацил формули (IV) і діол формули (II) в суміші води і органічного розчинника у присутності кислоти;

б) відділення водної фази, що містить діол формули (II) у вигляді солі вказаної кислоти, від органічної фази з одержанням органічної фази, що містить ацильне похідне формули (IV) у вигляді солі вказаної кислоти;

необов'язково виділення сполуки формули (II) у вигляді основи або її солі та необов'язково сполуки формули (IV) у вигляді основи або її солі.

Згідно з одним варіантом здійснення винаходу, в способі виділення і очищення, вказаному вище, R являє собою галоген або ціано, переважно ціано.

Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу, в способі виділення і очищення, вказаному вище, Hal являє собою фтор.

Згідно з переважним варіантом здійснення, пунктирна лінія є одинарним зв'язком.

Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу, Z являє собою диметиламінометил або групу, яка може перетворюватися на диметиламінометильну групу. Відповідним чином Z являє собою диметиламінометил.

Згідно з переважним варіантом здійснення винаходу, Hal являє собою фтор, Z являє собою диметиламінометил, пунктирна лінія є одинарним зв'язком, і R являє собою ціано або галоген, переважно ціано.

Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу, сполукою формули (IV) в способі виділення і очищення, вказаному вище, є сполука, в якій Y являє собою O або S, переважно Y являє собою O, а інші замісники є такими, як визначено вище. Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу сполукою формули (IV) в способі виділення і очищення, вказаному вище, є сполука, в якій Y являє собою S.

Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу, сполукою формули (IV) в способі виділення і очищення, вказаному вище, є сполука, в якій Y являє собою зв'язок, а інші замісники є такими, як визначено вище.

Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу, сполукою формули (IV) в способі виділення і очищення, вказаному вище, є сполука, в якій Y являє собою NH, а інші замісники є такими, як визначено вище.

Згідно з переважним варіантом здійснення винаходу, сполукою формули (IV) в способі виділення і очищення, вказаному вище, є сполука, в якій R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-6</sub>-алкіл, C<sub>2-6</sub>-алкеніл або C<sub>2-6</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-6</sub>-алкокси, C<sub>1-6</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-6</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-6</sub>-алкіл)аміно, більш переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-4</sub>-алкіл, C<sub>2-4</sub>-алкеніл або C<sub>2-4</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-4</sub>-алкокси, C<sub>1-4</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-4</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-4</sub>-алкіл)-аміно, переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-3</sub>-алкіл, C<sub>2-3</sub>-алкеніл або C<sub>2-3</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-3</sub>-алкокси, C<sub>1-3</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-3</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-3</sub>-алкіл)аміно, і найбільш переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-3</sub>-алкіл, зокрема нерозгалужений C<sub>1-3</sub>-алкіл.

Згідно з ще одним переважним варіантом здійснення винаходу сполукою формули (IV) в способі виділення і очищення, вказаному вище, є сполука, в якій R має наступні значення: C<sub>1-10</sub>-алкіл, C<sub>2-10</sub>-алкеніл або C<sub>2-10</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-10</sub>-алкокси, C<sub>1-10</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-6</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)аміно, більш переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-10</sub>-алкіл, C<sub>2-10</sub>-алкеніл або C<sub>2-10</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з гідрокси, галогену, аміно, нітро і ціано, переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-10</sub>-алкіл, переважно нерозгалужений C<sub>1-10</sub>-алкіл, і більш переважно R<sup>1</sup> являє собою нерозгалужений C<sub>4-10</sub>-алкіл.

За описаним вище способом виділення і очищення, сіль R- або S-енантіомера сполуки, що має формулу (II), з кислотою може селективно екстрагуватися у водний шар, а сіль протилежного енантіомера сполуки формули (IV) з кислотою може селективно відділятися у органічний шар обробкою у присутності кислоти суміші, яка включає енантіомер формули (II) і протилежний енантіомер формули (IV), реакційний розчинник тощо, органічним розчинником і водою та у присутності кислоти. В даному випадку сіль енантіомера формули (IV) і сіль енантіомера формули (II) можуть розділятися майже без втрат бажаних енантіомерів.

Згідно з одним варіантом здійснення вказаного вище способу відділення і очищення, S-енантіомер сполуки формули (IV) відділяють від R-енантіомера сполуки формули (II).

Згідно з ще одним варіантом здійснення вказаного вище способу відділення і очищення, S-енантіомер діолу формули (II) відділяють від R-енантіомера ацильного похідного формули (IV).

Кількість використовуваної води складає 1:2 - 1:100, переважно 1:5 - 1:50 як співвідношення між сполукою формули (II) і водою. Окрім того, перед екстрагуванням водою реакційний розчинник може випаровуватися для зниження кількості його або може замінюватися іншим органічним розчинником.

Кислота, яка може використовуватися у вказаному вище способі виділення і очищення, особливо не обмежується, і, наприклад, можуть бути згадані мінеральні кислоти, такі як хлористоводнева, сірчана і фосфорна кислота; органічні кислоти, зокрема, карбонові кислоти, представлені аліфатичними карбоновими кислотами, такими як мурашина, оцтова, пропіонова, н-масляна, ізомасляна, н-валеріанова, ізовалеріанова, триметилоцтова, н-капронова, ізокапронова, циклопентанкарбонова, циклогексанкарбонова, шавлева, малінова і винна кислота; або ароматичні карбонові кислоти, такі як бензойна, п-хлорбензойна, п-нітробензойна, п-метоксибензойна, п-толуїлова, о-толуїлова м-толуїлова, нафтойна, фталева і терефталева кислота. Серед них переважними є органічні кислоти, зокрема карбонові кислоти, такі як н-бутират, ізо-валерат, циклогексанкарбонова кислота, триметилоцтова, бензойна і о-толуїлова кислота, і особливо переважною є триметилоцтова кислота. Немає необхідності говорити, що

вищезгадані кислоти можуть використовуватися по одній або в комбінації двох або більше їх видів. Кількість використовуваних кислот особливо не обмежується, і молярне співвідношення суми сполук формули (IV) і (II) і кислоти складає звичайно 1:1 - 1:5, а переважно 1:1 - 1:3.

Кислота, використовувана на цей стадії виділення і очищення, може бути тією ж самою, що й органічна кислота, використовувана в реакції ацилювання або деацилювання згідно з винаходом або може бути іншою кислотою.

Як органічні розчинники, які можуть використовуватися на стадії виділення і очищення, можуть бути згадані, наприклад, вуглеводні, такі як гексан, гептан, бензол і толуол; етери, такі як діетиловий ефір, тетрагідрофуран, 1,4-діоксан, трет-бутилметиловий ефір і диметоксіетан; кетони, такі як ацетон, діетилкетон і метил етил кетон; естери, такі як метилацетат, етилацетат, етилбутират і етилбензоат; галогеновані вуглеводні, такі як метилхлорид, хлороформ і 1,1,1-трихлоретан. Серед них переважними є аліфатичні вуглеводні, такі як гексан і гептан, і ароматичні вуглеводні, такі як бензол і толуол. Найбільш переважними є ароматичні вуглеводні й найбільш переважним є толуол. Вказані вище розчинники можуть використовуватися поодиноці або в поєднанні двох або більше розчинників.

Температура на стадії виділення і очищення складає переважно 0-80°C, і більш переважно 10-40°C, і найбільш переважно 20-30°C.

Після розділення солей сполук формули (II) і (IV), згідно з вищевказаним способом виділення і очищення, невелику кількість сполуки формули (IV), яка частково змішана у водному шарі солі сполуки формули (II) з кислотою й тощо, можна ефективно видалити за допомогою промивки водного шару органічним розчинником.

Сіль діолу формули (II) може використовуватися у вигляді водного розчину солі, та, якщо необхідно, вона може використовуватися у вигляді розчину в іншому розчиннику або концентраті, одержаному за допомогою концентрування, заміни розчинника або аналогічної операції. Далі вона може використовуватися у вигляді кристалів, одержаних кристалізацією або за аналогічною операцією. Проте, звичайно діол формули (II) використовують у вигляді вільного діолу, одержаного за допомогою наступних операцій. Суміш, що містить діол формули (II) і органічний розчинник і/або концентрат, одержують шляхом обробки водного шару звичайною основою, такою як гідроксид натрію або гідроксид калію для регулювання pH водного шару, щоб даний показник складав, принаймні 9, переважно принаймні 11, наступного екстрагування вільної аміної форми діолу формули (II) органічним розчинником з подальшою промивкою і концентруванням екстракту. Хімічна чистота діолу формули (II), одержаного за допомогою неодноразового повторювання метода виділення і очищення, звичайно складає принаймні 95%, переважно принаймні 97%, більш переважно принаймні 99%, і найбільш переважно принаймні 99,5%.

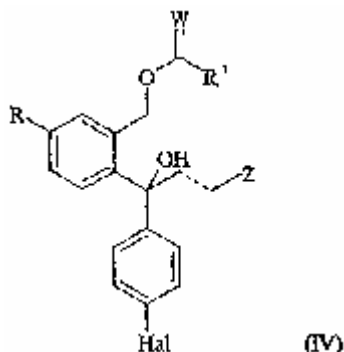
З іншого боку, сполука формули (IV), одержана за допомогою описаних вище операцій, може промиватися водною фазою для того, щоб поліпшити хімічну чистоту продукту. Сполука формули (IV) може бути одержана у вигляді вільної аміної форми шляхом обробки амонієвої солі сполуки формули (IV), одержаної за допомогою описаних вище операцій, основою. Хімічна чистота діолу формули (IV), одержаного за допомогою неодноразового повторювання способу виділення і очищення, звичайно складає принаймні 95%, переважно принаймні 97%, більш переважно принаймні 99%, і найбільш переважно принаймні 99,5%.

Оптична чистота продукту, одержаного після розділення енантіомерів формули (II) і (IV), як описано вище, може бути поліпшена перед подальшою переробкою. Поліпшення оптичної чистоти може бути досягнуто за допомогою хроматографії, як описано у [WO 03/011278], або за допомогою кристалізації діастереомерних естерів або солей з оптично активними кислотами, як описано в [патенті США №4943590].

Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу суміш сполуки формули (II) і сполуки формули (IV), яка розділяється за допомогою вказаного вище способу виділення і очищення, була одержана селективним ацилюванням, а згідно з ще одним варіантом здійснення - селективним деацилюванням згідно з винаходом.

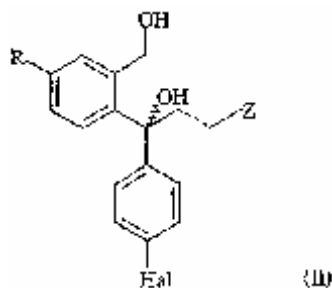
Винахід відноситься також до іншого нового способу відділення R- або S-діолу формули (II) від ацильного похідного формули (IV) іншого енантіомера, за допомогою якого може виділятися і очищатися бажана сполука.

Згідно з даним іншим способом виділення і очищення, ацильне похідне, яке має формулу



де R являє собою ціано або групу, яка може перетворюватися на ціаногрупу, Hal являє собою галоген, пунктирна лінія позначає подвійний або одинарний зв'язок, Z являє собою групу  $-CH_2-N(R'R'')$ , де R' і R'' являють собою C<sub>1-6</sub>-алкіл, або R' і R'' з'єднані один з одним з утворенням циклічної структури, що включає N-атом, до якого вони приєднані, або Z являє собою групу, яка може перетворюватися на диметиламінометильну групу, W являє собою O або S, і R<sup>3</sup> являє собою -Y-R<sup>1</sup>, де Y являє собою зв'язок, O, S або NH, і R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-10</sub>-алкіл, C<sub>2-10</sub>-алкеніл або C<sub>2-10</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-10</sub>-алкокси, C<sub>1-10</sub>-алкілтіо, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-10</sub>-алкіламіно, ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)-аміно, арилу, арилокси, арилтіо і гетероарилу, або R<sup>1</sup>

являє собою арил, де будь-яка з арильних і гетероарильних груп може бути необов'язково заміщена один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-10</sub>-алкілу, C<sub>2-10</sub>-алкенілу, C<sub>2-10</sub>-алкінілу, C<sub>1-10</sub>-алкокси, C<sub>1-10</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-10</sub>-алкіламіно та ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)-аміно, або його сіль та/або діол формули



де R, Hal, пунктирна лінія і Z є такими, як визначено вище, або його сіль, виділяють з суміші, що містить сполуку формули (IV) і сполуку формули (II), за допомогою способу, який включає:

а) обробку вказаної суміші, що містить сполуку формули (IV) і діол формули (II), в суміші води, протонного органічного розчинника та аполярного органічного розчинника;

б) відділення водної фази, що містить діол формули (II), від органічної фази з одержанням органічної фази, що містить сполуку формули (IV);

необов'язково виділення діолу формули (II) і/або (IV) у вигляді основи і необов'язково перетворення сполуки формули (II) і/або (IV) в її сіль.

Будь-яка з вказаних вище виділених фаз (водна і органічна) може додатково промиватися один або більше разів органічним або водним розчинником, відповідно, для поліпшення хімічної чистоти продукту.

Згідно з одним варіантом здійснення вказаного вище способу виділення і очищення, S-діол формули (II) відділяють від R-енантіомера сполуки формули (IV).

Згідно з ще одним варіантом здійснення вказаного вище способу виділення і очищення, S-енантіомер сполуки формули (IV) відділяють від R-енантіомера сполуки формули (II).

Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу, в способі виділення і очищення, вказаному вище, R являє собою галоген або ціано, переважно ціано.

Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу, в способі виділення і очищення, вказаному вище, Hal являє собою фтор.

Згідно з переважним варіантом здійснення пунктирна лінія є одинарним зв'язком.

Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу Z являє собою диметиламінометил або групу, яка може перетворюватися на диметиламінометильну групу. Відповідним чином Z являє собою диметиламінометил.

Згідно з переважним варіантом здійснення винаходу Hal являє собою фтор, Z являє собою диметиламінометил, пунктирна лінія є одинарним зв'язком, а R являє собою ціано або галоген, переважно ціано.

Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу, сполукою формули (IV) в способі виділення і очищення, вказаному вище, є сполука, в якій Y являє собою O або S, переважно Y являє собою O, а інші замісники є такими, як визначено вище. Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу, сполукою формули (IV) в способі виділення і очищення, вказаному вище, є сполука, в якій Y являє собою S.

Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу, сполукою формули (IV) в способі виділення і очищення, вказаному вище, є сполука, в якій Y є зв'язком, а інші замісники є такими, як визначено вище.

Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу, сполукою формули (IV) в способі виділення і очищення, вказаному вище, є сполука, в якій Y являє собою NH, а інші замісники є такими, як визначено вище.

Згідно з подальшим варіантом здійснення винаходу, сполукою формули (IV) в способі виділення і очищення, вказаному вище, є сполука, в якій R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-6</sub>-алкіл, C<sub>2-6</sub>-алкеніл або C<sub>2-6</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-6</sub>-алкокси, C<sub>1-6</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-6</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-6</sub>-алкіл)аміно, більш переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-4</sub>-алкіл, C<sub>2-4</sub>-алкеніл або C<sub>2-4</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-4</sub>-алкокси, C<sub>1-4</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-4</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-4</sub>-алкіл)аміно, переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-3</sub>-алкіл, C<sub>2-3</sub>-алкеніл або C<sub>2-3</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-3</sub>-алкокси, C<sub>1-3</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-3</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-3</sub>-алкіл)аміно, і найбільш переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-3</sub>-алкіл, зокрема нерозгалужений C<sub>1-3</sub>-алкіл.

Згідно з ще одним переважним варіантом здійснення винаходу, сполукою формули (IV) в способі виділення і очищення, вказаному вище, є сполука, в якій R<sup>1</sup> має наступні значення: C<sub>1-10</sub>-алкіл, C<sub>2-10</sub>-алкеніл або C<sub>2-10</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-10</sub>-алкокси, C<sub>1-10</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-6</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)аміно, більш переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-10</sub>-алкіл, C<sub>2-10</sub>-алкеніл або C<sub>2-10</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з гідрокси, галогену, аміно, нітро і ціано, переважно R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-10</sub>-алкіл, переважно нерозгалужений C<sub>1-10</sub>-алкіл, і більш переважно R<sup>1</sup> являє собою нерозгалужений C<sub>4-10</sub>-алкіл.

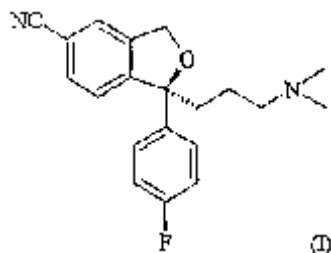
Як протонний органічний розчинник, який може використовуватися на стадії виділення і очищення, можуть бути згадані, наприклад, спирти такі, як метанол, етанол, 1-пропанол, 2-пропанол, 1-бутанол, 2-бутанол і трет-бутанол. Вказані вище розчинники можуть використовуватися поодиночі або в поєднанні двох або більше їх видів.

Як аполярні органічні розчинники, які можуть використовуватися на стадії виділення і очищення, можуть бути згадані, наприклад, вуглеводні, такі як гексан, гептан, бензол і толуол; етери, такі як діетиловий ефір, трет-бутилметиловий ефір і диметоксигетан; галогеновані вуглеводні, такі як метиленхлорид, хлороформ і 1,1,1-трихлоретан. Серед них переважними є вуглеводні, такі як гексан, гептан, бензол і толуол. Найбільш переважним є гептан. Вказані вище розчинники можуть використовуватися поодиночі або в поєднанні двох або більше їх видів.

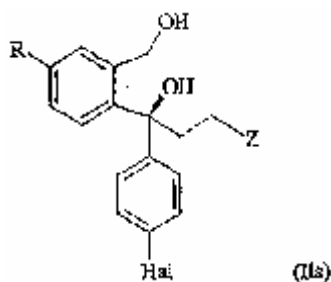
Згідно з переважним варіантом здійснення винаходу, суміш сполуки формули (IV) і діолу формули (II), використовується у вказаному вище способі виділення і очищення, одержують за допомогою ферментативного ацилювання згідно з винаходом, а згідно з іншим варіантом здійснення - за допомогою ферментативного деацилювання згідно з винаходом.

Оптична чистота продукту, одержаного після розділення енантіомерів формули (II) і (IV), як описано вище, може бути поліпшена перед подальшою переробкою. Поліпшення оптичної чистоти може бути досягнуто за допомогою хроматографії, як описано в [WO 03/006449], або за допомогою кристалізації діастереомерних естерів або солей з оптично активними кислотами, як описано в [патенті США №4943590].

Цей винахід відноситься також до способу одержання S-циталопраму, що має формулу

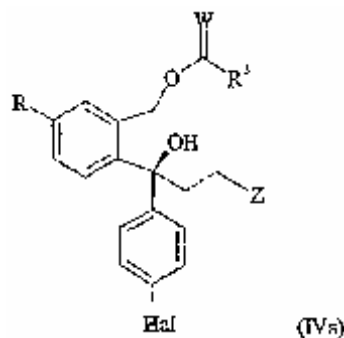


або його фармацевтично прийнятної солі, який включає одержання S-енантіомера діолу, що має формулу



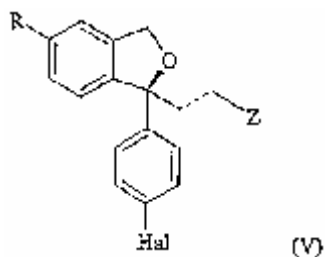
де R являє собою ціано або групу, яка може перетворюватися на ціаногрупу, пунктирна лінія позначає подвійний або одинарний зв'язок, Z являє собою диметиламінометильну групу або групу, яка може перетворюватися на диметиламінометильну групу, а Hal являє собою галоген, або його солі

або S-енантіомера ацилизованого діолу, що має формулу



де R, Z, пунктирна лінія і Hal є такими, як визначено вище, W являє собою O або S, і R<sup>3</sup> являє собою -Y-R<sup>1</sup>, де R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-10</sub>-алкіл, C<sub>2-10</sub>-алкеніл або C<sub>2-10</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками вибраними з C<sub>1-10</sub>-алкокси, C<sub>1-10</sub>-алкілтіо, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-10</sub>-алкіламіно, ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)аміно, арилу, арилокси, арилтіо і гетероарилу, або R<sup>1</sup> являє собою арил, де будь-яка з арильних і гетероарильних груп може бути необов'язково заміщена один або більше разів замісниками, вибраними C<sub>1-10</sub>-алкілу, C<sub>2-10</sub>-алкенілу або C<sub>2-10</sub>-алкінілу, C<sub>1-10</sub>-алкокси, C<sub>1-10</sub>-алкілтіо, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-10</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)аміно, і Y являє собою зв'язок, O, S або NH, або його солі, в одному варіанті здійснення - за способом селективного ферментативного ацилювання згідно з винаходом, як визначено в будь-якому з описаних вище варіантів здійснення, і в іншому варіанті здійснення - за способом селективного ферментативного деацилювання згідно з винаходом, як визначено в будь-якому з описаних вище варіантів здійснення, необов'язково з подальшим, у будь-якому порядку, перетворенням групи R в ціаногрупу, відновленням подвійного зв'язку, представленого пунктирною лінією, перетворенням групи Z в диметиламінометильну групу та/або перетворенням групи Hal на фтор і замиканням кільця в лужних умовах S-енантіомера формули (IIa) або

(IVs) або його лабільного складноефірного похідного з утворенням сполуки формули



з подальшим, у будь-якому порядку, якщо R не є ціано, перетворенням групи R в ціаногрупу, якщо пунктирна лінія є подвійним зв'язком, відновленням в одинарний зв'язок, якщо Z не є диметиламінометилом, перетворенням групи Z в диметиламінометильну групу, і, якщо Hal не є фтором, перетворенням Hal на фтор з подальшим виділенням S-циталопраму або його фармацевтично прийнятної солі.

Згідно з одним варіантом здійснення винаходу, S-енантіомер формули (IIs), наведеної вище, або S-енантіомер формули (IVs), використовуваний для одержання S-циталопраму, відділяють від R-енантіомера формули (IV) і (II), відповідно, перед замиканням кільця.

Згідно з одним варіантом здійснення вказаного вище способу одержання S-циталопраму, суміш R- або S-енантіомера сполуки формули (II) і протилежного енантіомера сполуки формули (IV), одержана ферментативним ацилюванням, розділяють для відділення енантіомерів один від одного за допомогою процесу виділення і очищення згідно з одним з вищевказаних нових методів виділення і очищення. Згідно з ще одним варіантом здійснення, суміш розділяють за допомогою іншого з вказаних вище нових способів виділення і очищення.

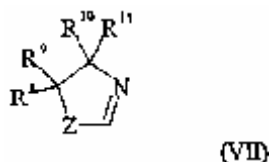
Згідно з одним варіантом здійснення описаного вище способу одержання S-циталопраму, суміш R- або S-енантіомера сполуки формули (II) і протилежного енантіомера сполуки формули (IV), одержана ферментативним деацилюванням, розділяють для відділення енантіомерів один від одного за допомогою процесу виділення і очищення згідно з одним з вказаних вище нових способів виділення і очищення. Згідно з ще одним варіантом здійснення суміш розділяють за допомогою іншого з вказаних вище нових способів виділення і очищення.

Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу, S-енантіомер формули (IIs), наведеної вище, або S-енантіомер формули (IVs), наведеної вище, використовуваний для одержання S-циталопраму, не відділяють від R-енантіомера формули (IV) і (II), відповідно, перед замиканням кільця.

Як згадувалося вище, група R означає ціано або будь-яку іншу групу, яка може бути перетворена на ціаногрупу.

Групи, які можуть бути перетворені на ціаногрупу, включають галоген, такий як хлор, бром, йод або фтор, переважно хлор або бром.

Інші групи, які можна перетворити на ціано, включають  $\text{CF}_3\text{-(CF}_2)_n\text{-SO}_2\text{-O-}$ , де n являє собою 0-8, -OH, -CHO,  $\text{-CH}_2\text{OH}$ ,  $\text{-CH}_2\text{NH}_2$ ,  $\text{-CH}_2\text{NO}_2$ ,  $\text{-CH}_2\text{Cl}$ ,  $\text{-CH}_2\text{Br}$ ,  $\text{-CH}_3$ ,  $\text{-NHR}^5$ ,  $\text{-CHNOH}$ ,  $\text{-COOR}^6$ ,  $\text{-CONR}^6\text{R}^7$ , де  $\text{R}^5$  являє собою водень або  $\text{C}_{1-6}$  алкілкарбоніл, а  $\text{R}^6$  і  $\text{R}^7$  вибирають з водню, необов'язково заміщеного  $\text{C}_{1-6}$  алкілу, арил- $\text{C}_{1-6}$  алкілу або арилу, та групу формули



де Z являє собою O або S;  $\text{R}^8\text{-R}^9$  кожен незалежно вибраний з водню і  $\text{C}_{1-6}$  алкілу, або  $\text{R}^8$  і  $\text{R}^9$  разом утворюють  $\text{C}_{2-5}$  алкіленовий ланцюг, утворюючи тим самим спіро-кільце;  $\text{R}^{10}$  вибраний з водню і  $\text{C}_{1-6}$  алкілу,  $\text{R}^{11}$  вибраний з водню,  $\text{C}_{1-6}$  алкілу, карбокси групи або її групи-попередника, або  $\text{R}^{10}$  і  $\text{R}^{11}$  разом утворюють  $\text{C}_{2-5}$  алкіленовий ланцюг, утворюючи тим самим спіро-кільце.

Коли R являє собою галоген, зокрема бром або хлор, перетворення у ціано може здійснюватися, як описано в [патенті США №4136193, WO 00/13648, WO 00/11926 і WO 01/02383].

Згідно з [патентом США №4136193] перетворення бромогрупи в ціаногрупу здійснюється за реакцією з  $\text{CuCN}$ .

[WO 00/13648 і WO 00/11926] описують перетворення галогену або трифлатної (трифторметансульфонатної) групи у ціаногрупу за допомогою ціанування джерелом ціаніду у присутності Pd- або Ni-каталізатора.

Інші процеси перетворення бромосполуки у відповідне ціанопохідне включають реакцію бромистої сполуки з магнієм з утворенням реактиву Гріньяра з подальшою реакцією з формамідом з утворенням альдегіду. Альдегід перетворюють на оксим або гіdraзон, який перетворюють на ціаногрупу за допомогою дегідратації і окиснення, відповідно.

Альтернативно, бромосполука піддають реакції з магнієм з утворенням реагенту Гріньяра з подальшою реакцією із сполукою, що містить CN-групу, приєднану до групи, що вилучається.

Докладний опис вказаних вище двох процедур можна знайти у [WO 01/02383].

Сполуки, в яких R являє собою -CHO, можна перетворити на відповідні сполуки, в яких R являє собою ціано, за способами, аналогічними описаним у [WO 99/00210].

Сполуки, в яких група R являє собою  $\text{NHR}^{12}$ , де  $\text{R}^{12}$  являє собою водень або алкілкарбоніл, можна перетворити на відповідні сполуки, в яких група R являє собою ціано, за методами, аналогічними тим, що

описані у [WO 98/19512].

Сполуки, в яких R являє собою  $-\text{COOR}^6$  групу, можна перетворити на відповідні сполуки, в яких R являє собою ціано, за допомогою перетворення в амід через відповідний хлорангідрид кислоти або його естер з подальшою дегідратацією амиду. [WO 01/68632].

Альтернативно, сполуку, в якій R являє собою  $-\text{COOH}$ , можна піддавати реакції з хлорсульфонілізоціанатом для утворення нітрилу, або обробляти дегідратуючим агентом і сульфонамідом, як описано у [WO 00/44738].

Сполуки, в яких група R являє собою  $-\text{CONR}^{13}\text{R}^{14}$ , де  $\text{R}^{13}$  і  $\text{R}^{14}$  вибирають з водню, необов'язково заміщеного алкілом, аранкілом або арилом, можна перетворити на відповідну ціаносполуку за методами, аналогічними описаним у [WO 98/00081 і WO 98/19511].

Сполуки, в яких група R є групою формули (VII), можна перетворити на відповідну ціаносполуку за методами, аналогічними описаним в [WO 00/23431].

Сполуки, в яких R являє собою  $\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{NO}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{Cl}$ ,  $-\text{CH}_2\text{Br}$ ,  $-\text{CH}_3$  або будь-яку з груп, вказаних вище, можна перетворити на відповідні ціаносполуки за методами, аналогічними описаним у [WO 01/68632].

Рацемічні сполуки формули (II) можуть бути одержані за методами, описаними в згаданих вище патентах, або за методом алкілювання, описаному в [патенті США №4136193], або шляхом подвійної реакції Грін'єра, описаної в [EP 171943], або за допомогою аналогічних методів. Рацемічні сполуки формули (IV) можуть бути одержані з рацемічних сполук формули (II) за допомогою неселективного ацилювання з використанням ангідридів, естерів, карбонатів, ізоціанатів або ізотіоціанатів за наведеними вище формулами (IIIa), (IIIb), (IIIc),  $\text{R}^1\text{-N}=\text{C}=\text{O}$  і  $\text{R}^1\text{-N}=\text{C}=\text{S}$ .

В деяких випадках рацемічна сполука формули (II) може бути доступна у формі кислотнo-адитивної солі, такої як сульфатна сіль, і в даному випадку вільна основа сполуки формули (II) може бути одержана обробкою солі основою в суміші води і органічного розчинника для перенесення сполуки формули (II) в органічну фазу.

Переважаю, R являє собою ціано в сполуках формули (II), (IIs), (IIr), (IV), (IVs), (IVr) і (V). Якщо R не є ціано, перетворення групи R в ціаногрупу зручно здійснювати після замикання кільця з утворенням сполуки формули (V).

Переважаю, Hal являє собою фтор в сполуках формули (II), (IIs), (IIr), (IV), (IVs), (IVr) і (V). Якщо Hal не є фтором, перетворення групи Hal на фтор зручно здійснювати після замикання кільця з утворенням сполуки формули (V). Процес здійснення даного перетворення описаний в [Speciality Chemicals Magazine, April 2003, сторінки 36-38].

Z групами, які можна перетворити в диметиламінометил, є такі групи, як  $-\text{CH}_2\text{-L}$ ,  $-\text{CH}_2\text{-NO}_2$ ,  $-\text{MgHal}$ , ціано, альдегід,  $-\text{CH}_2\text{-O-Pg}$ ,  $-\text{CH}_2\text{-NPg}_1\text{Pg}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{-NMePg}_1$ ,  $-\text{CH}_2\text{-NHCH}_3$ ,  $-\text{CH}_2\text{-NH}_2$ ,  $-\text{CO-N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $-\text{CH}(\text{A}^1\text{R}^{12})(\text{A}^1\text{R}^{13})$ ,  $-(\text{A}^1\text{R}^{14})(\text{A}^2\text{R}^{15})(\text{A}^3\text{R}^{16})$ ,  $\text{COOR}^{17}$ ,  $-\text{CH}_2\text{-CO-NH}_2$ ,  $-\text{CH}=\text{CH-R}^{18}$  або  $-\text{CONHR}^{19}$ , де Pg являє собою захисну групу для спиртової групи,  $\text{Pg}_1$  і  $\text{Pg}_2$  є захисними групами для аміногрупи,  $\text{R}^{12}$  і  $\text{R}^{13}$  незалежно вибирають з  $\text{C}_{1-6}$ -алкілу,  $\text{C}_{2-6}$ -алкенілу,  $\text{C}_{2-6}$ -алкінілу і необов'язково алкіл-заміщених арильних або аранкільних груп, або  $\text{R}^{12}$  і  $\text{R}^{13}$  разом утворюють ланцюг з 2-4 атомів вуглецю, кожний з  $\text{R}^{14}\text{-R}^{18}$  незалежно вибрані з  $\text{C}_{1-6}$ -алкілу,  $\text{C}_{2-6}$ -алкенілу,  $\text{C}_{2-6}$ -алкінілу і необов'язково  $\text{C}_{1-6}$ -алкіл-заміщеного арилу або арил- $\text{C}_{1-6}$ -алкілу,  $\text{R}^{19}$  являє собою водень або метил, і  $\text{A}^1$ ,  $\text{A}^2$  і  $\text{A}^3$  вибрані з O і S; L означає групу, яка вилучається, таку як галоген або  $-\text{O-SO}_2\text{-A}$ , де A являє собою  $\text{C}_{1-6}$ -алкіл,  $\text{C}_{2-6}$ -алкеніл,  $\text{C}_{2-6}$ -алкініл або необов'язково  $\text{C}_{1-6}$ -алкіл-заміщений арил або арил- $\text{C}_{1-6}$ -алкіл.

Згідно з одним варіантом здійснення винаходу, Z являє собою диметиламінометил,  $-\text{CH}_2\text{-L}$ ,  $-\text{CH}_2\text{-NPg}_1\text{Pg}_2$ ,  $-\text{CH}_2\text{-NMePg}_1$ ,  $-\text{CH}_2\text{-NHCH}_3$ ,  $-\text{CH}_2\text{-NH}_2$ ,  $-\text{CO-N}(\text{CH}_3)_2$ , альдегід або  $-\text{COOR}^{17}$  в сполуках формули (II), (IIs), (IIr), (IV), (IVs), (IVr) і (V).

Сполуки, в яких Z являє собою  $-\text{CH}_2\text{-O-Pg}$ , можна перетворити на відповідні сполуки, в яких Z являє собою диметиламінометил, за допомогою видалення захисної групи з утворенням відповідного спирту і після цього перетворення спиртової групи в можливу групу, що вилучається, і реакції одержаної сполуки з

a) диметиламіном або його сіллю,  
b) метиламіном з подальшим метилюванням або відновним амінуванням, або  
c) азидом з подальшим відновленням з утворенням відповідного аміну і після цього з подальшим метилюванням або відновним амінуванням, як описано у [WO 01/43525, WO 01/51478 або WO 01/68631], або за допомогою аналогічних методів.

Сполуки, в яких Z являє собою  $-\text{CH}_2\text{-L}$ , де L означає групу, яка вилучається, можна перетворити на диметиламінометильну групу таким же чином.

Сполуки, в яких Z являє собою  $-\text{CO-N}(\text{CH}_3)_2$  і  $-\text{CO-NHR}^{19}$ , де  $\text{R}^{19}$  являє собою водень або метил, можна перетворити на відповідні сполуки, в яких Z являє собою диметиламінометил, за допомогою відновлення амиду і, якщо утворюється первинний або вторинний амін, з подальшим метилюванням або відновним амінуванням з утворенням диметиламінометильної групи, як описано у [WO 01/43525 або WO 01/68631], або за аналогічними методами.

Сполуки, в яких Z являє собою  $-\text{CH}_2\text{-NMe}(\text{Pg}_1)$  або  $-\text{CH}_2\text{-N}(\text{Pg}_1)(\text{Pg}_2)$ , можна перетворити на відповідні сполуки, в яких Z являє собою диметиламінометил, видаленням захисних груп, тобто з одержанням сполук, в яких Z являє собою  $-\text{CH}_2\text{-NH}_2$  або  $-\text{CH}_2\text{-NMe}$ , і після цього метилюванням аміногрупи або відновним амінуванням з утворенням диметиламінометильної групи, як описано у [WO 01/43525 або WO 01/68631], або за аналогічними методами.

Сполуки, в яких Z являє собою  $-\text{CH}(\text{A}^1\text{R}^{12})(\text{A}^2\text{R}^{13})$ , можна перетворити на відповідні сполуки, в яких Z являє собою диметиламінометил, за допомогою зняття захисту з утворенням альдегіду (сполук, в яких Z являє собою  $-\text{CH}_2\text{-CA}^1\text{H}$ ), подальшим відновним амінуванням диметиламіном з утворенням диметиламінометильної групи, як описано у [WO 01/43525 або WO 01/68631], або за аналогічними методами.

Сполуки, в яких Z являє собою  $-\text{C}(\text{A}^1\text{R}^{14})(\text{A}^2\text{R}^{15})(\text{A}^3\text{R}^{16})$ , можна перетворити на відповідні сполуки, в яких Z являє собою диметиламінометил, за допомогою

i) гідролізу з утворенням карбонової кислоти або її естеру і наступного відновлення з утворенням

спирту, а після цього перетворення спиртової групи в можливу групу, що вилучається, з подальшою заміною групи, що вилучається, диметиламіногрупою, як описано вище, або

ii) перетворення карбонової кислоти або її естеру в амід за реакцією з аміном формули  $\text{NH}(\text{Me})_2$ ,  $\text{NH}_2\text{Me}$ ,  $\text{NH}_3$  або його сіллю з подальшим, у будь-якому порядку, відновленням амідів і, якщо необхідно, метилюванням або відновним амінуванням з утворенням диметиламіногрупи, як описано у [WO 01/68631], або за аналогічними методами.

Сполуки, в яких Z являє собою  $-\text{COOR}^{17}$ , можна перетворити на відповідні сполуки, в яких Z являє собою диметиламінометил, як описано вище, починаючи з естеру карбонової кислоти.

Сполуки, в яких Z являє собою  $-\text{CH}_2-\text{CONH}_2$ , можна перетворити на відповідні сполуки, в яких Z являє собою диметиламінометил, за допомогою обробки гіпогалогенідом з утворенням первинного аміну з подальшим метилюванням вільної аміногрупи або відновним амінуванням з утворенням диметиламінометильної групи, як описано у [WO 01/43525 або WO 01/68631], або за аналогічними методами.

Сполуки, в яких Z являє собою  $-\text{CH}=\text{CHR}^{18}$ , можна перетворити на відповідні сполуки, в яких Z являє собою диметиламінометил, за допомогою окисдування з утворенням альдегіду, який можна перетворити на сполуки з диметиламінометилом за допомогою відновного амінування, як описано у [WO 01/43525 або WO 01/68631], або за аналогічними методами.

Сполуки, в яких Z являє собою  $-\text{CH}_2-\text{NO}_2$ , можна перетворити на відповідні сполуки, в яких Z являє собою диметиламінометил, за допомогою відновлення з подальшим метилюванням або відновним амінуванням вільної аміногрупи, що утворилася, з утворенням диметиламінометильної групи, як описано у [WO 01/68629] або за аналогічними методами.

Сполуки, в яких Z являє собою  $-\text{MgHal}$ , можна перетворити на відповідні сполуки, в яких Z являє собою диметиламінометил, за допомогою реакції з диметиламінометилалкіловим етером формули  $(\text{CH}_3)_2\text{NCH}_2\text{O}$ -алкіл, як описано у [WO 01/68629], або за аналогічними методами.

Переважає Z являє собою диметиламінометил. Якщо Z не є диметиламінометилом, перетворення Z в диметиламінометильну групу зручно здійснювати після замикання кільця.

Відповідним чином Z являє собою диметиламінометил,  $-\text{CH}_2-\text{L}$ ,  $-\text{CH}_2-\text{NPg}_1\text{Pg}_2$ ,  $-\text{CH}_2-\text{NMePg}_1$ ,  $-\text{CH}_2-\text{NHCH}_3$ ,  $-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ , альдегід,  $-\text{CO}-\text{N}(\text{CH}_3)_2$ ,  $\text{COOR}^{17}$ , коли пунктирна лінія являє собою зв'язок.

Сполуки формули (II) або (IV), де Z являє собою диметиламінометил,  $-\text{CH}_2-\text{NPg}_1\text{Pg}_2$ ,  $-\text{CH}_2-\text{NMePg}_1$ ,  $-\text{CH}_2-\text{NHCH}_3$  або  $-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ , зокрема, сполуки, де Z являє собою диметиламінометил,  $-\text{CH}_2-\text{NHCH}_3$  або  $-\text{CH}_2-\text{NH}_2$ , особливо добре підходять для способу виділення і очищення згідно з винаходом, в якому розділяються сполуки формули (II) і (IV).

У сполуках формули (II), (IIs), (IIr), (IV), (IVs), (IVr) і (V) пунктирна лінія переважно є одинарним зв'язком. Сполуки, в яких пунктирна лінія є подвійним зв'язком, можна перетворити на відповідні сполуки, в яких пунктирна лінія є одинарним зв'язком, за методами, описаними у [WO 01/68630]. Відновлення переважно здійснюють після замикання кільця.

Енантіоселективне замикання кільця сполук формули (IVs) або (IIs) з утворенням сполук формули (V) можна зручно здійснювати за допомогою обробки лабільного естерного похідного сполуки основою, такою як  $\text{KOC}(\text{CH}_3)_3$  та інші алкокси,  $\text{NaN}$  і інші гідриди, триетиламін, етилдїізопропіламін або піридин, при низьких температурах в інертному органічному розчиннику, такому як тетрагідрофуран, толуол, ДМСО, ДМФ, трет-бутилметильовий етер, диметоксїетан, диметоксиметан, діоксан, ацетонїтрил або дихлорметан. Даний процес описаний в [патенті США №4943590].

Замикання кільця сполуки формули (IIs) зручно здійснювати за допомогою обробки основою, як описано вище, у присутності агента, здатного утворювати лабільну групу з первинним спиртом діолу, таку як метансульфонїлокси, п-толуолсульфонїлокси, 10-камфорсульфонїлокси, трифторацетїлокси і трифторметансульфонїлокси або галоген.

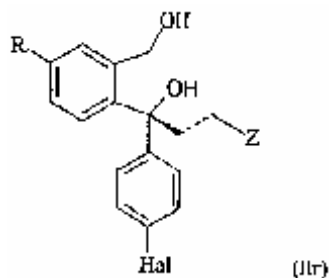
В деяких випадках може бути переважним обмінювати групу  $-\text{W}-\text{R}^3$  у сполуці формули (IVs) на більш лабільну групу перед тим, як здійснювати замикання кільця. Такими лабільними групами (групами, що видаляються) можуть бути в типовому випадку групи, вибрані з метансульфонїлокси, п-толуолсульфонїлокси, 10-камфорсульфонїлокси, трифторацетїлокси і трифторметансульфонїлокси або галогену.

У типовому випадку сполуку формули (IVs) піддають гідролїзу, утворюючи сполуку формули (IIs) з водним лугом, таким як  $\text{NaOH}$ ,  $\text{KOH}$  або  $\text{LiOH}$ , у воді або спирті або їх суміші, а потім піддають реакції з активованою групою, що вилучається, такою як, наприклад, мезїлхлорїд або тозилхлорїд, в органічному розчиннику в присутності органічної основи.

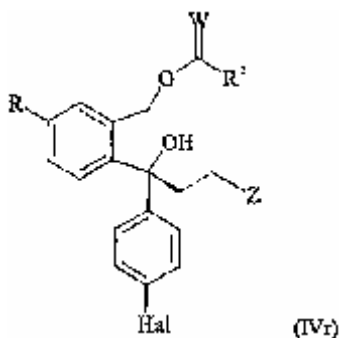
Оптичну чистоту S-циталопрамного продукту може бути необхідним поліпшити після замикання кільця. Полїпшення оптичної чистоти може досягатися за допомогою хроматографії на хїральній стаціонарній фазі або кристалїзації рацемїчної циталопрамної вільної основи або її солі згідно з методами, описаними у [WO 03/000672].

R-енантіомер сполук формули (II) і (IV), одержаний згідно з винаходом, може використовуватися для одержання рацемїчного циталопраму і S-циталопраму за допомогою замикання кільця в кислому навколишньому середовищі згідно зі способом, описаним у [WO 03/000672]. Відповідними кислотами для здійснення кислого замикання кільця є мінеральна кислота, карбонова кислота, сульфенова кислота або похідне сульфенової кислоти, більш відповідними є  $\text{H}_2\text{SO}_4$  або  $\text{H}_3\text{PO}_4$ .

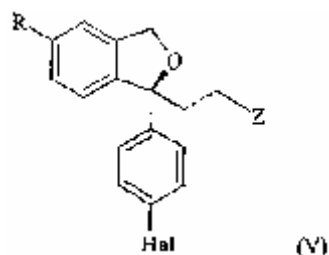
Таким чином, згідно ще з одним варіантом здійснення винахід відноситься до процесу одержання рацемїчного циталопраму та/або S-циталопраму або його фармацевтично прийнятної солі, що включає одержання R-енантіомера діолу, що має формулу



де R являє собою ціано або групу, яка може перетворюватися на ціаногрупу, пунктирна лінія позначає необов'язковий зв'язок, і Z являє собою диметиламінометильну групу або групу, яка може перетворюватися на диметиламінометильну групу, а Hal являє собою галоген, або його солі або R-енантіомера ацилованого діолу, що має формулу



де R, Z, пунктирна лінія і Hal є такими, як визначено вище, W являє собою O або S, і R<sup>1</sup> являє собою -Y-R<sup>1</sup>, де R<sup>1</sup> являє собою C<sub>1-10</sub>-алкіл, C<sub>2-10</sub>-алкеніл або C<sub>2-10</sub>-алкініл, всі з яких можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-10</sub>-алкокси, C<sub>1-10</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-10</sub>-алкіламіно, ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)аміно, арилу, арилокси, арилтію і гетероарилу, або R<sup>1</sup> являє собою арил, де будь-які з арильних і гетероарильних груп можуть бути необов'язково заміщені один або більше разів замісниками, вибраними з C<sub>1-10</sub>-алкілу, C<sub>2-10</sub>-алкенілу, C<sub>2-10</sub>-алкінілу, C<sub>1-10</sub>-алкокси, C<sub>1-10</sub>-алкілтію, гідрокси, галогену, аміно, нітро, ціано, C<sub>1-10</sub>-алкіламіно і ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)аміно, і Y являє собою зв'язок, O, S або NH, або його солі, згідно з одним варіантом здійснення - за допомогою способу селективного ферментативного ацилювання згідно з винаходом, як визначено в будь-якому з варіантів здійснення, описаних вище, і згідно ще одним варіантом здійснення - за допомогою способу селективного ферментативного деацилювання згідно з винаходом, як визначено в будь-якому з варіантів здійснення, описаних вище, необов'язково з подальшим, у будь-якому порядку, перетворенням групи R в ціаногрупу, відновленням подвійного зв'язку, представленого пунктирною лінією, в одинарний зв'язок, перетворенням групи Z в диметиламінометильну групу та/або перетворенням групи Hal на фтор і замиканням кільця в кислих умовах R-енантіомера формули (IIIr) або (IVr) з утворенням суміші сполук формули



де Hal, Z, R і пунктирна лінія є такими, як визначено вище, і невеликої кількості відповідного R-енантіомера, з подальшим, у будь-якому порядку, якщо R не являє собою ціано, перетворенням групи R в ціаногрупу, якщо пунктирна лінія є подвійним зв'язком, відновленням в одинарний зв'язок, якщо Z не є диметиламінометилем, перетворенням групи Z в диметиламінометильну групу, і, якщо Hal не є фтором, перетворенням Hal на фтор з подальшим виділенням S-циталопраму та/або рацемічного циталопраму або його фармацевтично прийнятної солі, осадженням рацемічної циталопрамною вільної основи або її солі та виділенням S-циталопраму з маткової рідини від осадження.

Описаний вище спосіб перетворення R-діолу в S-циталопрам використовується відповідним чином для одержання S-циталопраму.

Перетворення групи R в ціаногрупу, відновлення подвійного зв'язку, представленого пунктирною лінією, в одинарний зв'язок, перетворення групи Z в диметиламінометильну групу і перетворення Hal на фтор може здійснюватися так, як описано вище.

Згідно з одним варіантом здійснення вказаного вище способу одержання S-циталопраму, суміш R- або S-енантіомера сполуки формули (II) і протилежного енантіомера сполуки формули (IV), одержана ферментативним ацилюванням, розділяють для відділення енантіомерів один від одного за допомогою процесу виділення і очищення згідно з одним з описаних вище способів виділення і очищення. Згідно з ще одним варіантом здійснення, суміш розділяють за іншим з описаних вище способів виділення і очищення.



Згідно з ще одним варіантом здійснення вказаного вище способу одержання S-циталопраму, суміш R- або S-енантіомера сполуки формули (II) і протилежного енантіомера сполуки формули (IV), одержана ферментативним деацитуванням, розділяють для відділення енантіомерів один від одного за допомогою процесу виділення і очищення згідно з одним з описаних вище способів виділення і очищення. Згідно з ще одним варіантом здійснення суміш розділяють за іншим з описаних вище способів виділення і очищення.

Згідно з ще одним варіантом здійснення винаходу, S-енантіомер формули (IIr), наведеної вище, або S-енантіомер формули (IVr), використовуваний для одержання S-циталопраму, не відділяють від R-енантіомера формули (IV) і (II), відповідно, перед замиканням кільця.

Може бути необхідним поліпшити оптичну чистоту S-циталопрамного продукту після замиканням кільця. Поліпшення оптичної чистоти може бути досягнуто за допомогою хроматографії на хіральній стаціонарній фазі або шляхом кристалізації рацемічної циталопрамної основи або її солі згідно з методами, описаними у [WO 03/000672].

У використовуваному тут сенсі термін "C<sub>1-10</sub>-алкіл" відноситься до розгалуженої або нерозгалуженої алкільної групи, що має від одного до десяти атомів вуглецю, включно, такої як метил, етил, 1-пропіл, 2-пропіл, 1-бутил, 2-бутил, 2-метил-2-пропіл, 2-метил-1-пропіл, пентил, гексил і гептил. "C<sub>1-6</sub>-алкіл" відноситься до розгалуженої або нерозгалуженої алкільної групи, що має від одного до шести атомів вуглецю, включно, такої як метил, етил, 1-пропіл, 2-пропіл, 1-бутил, 2-бутил, 2-метил-2-пропіл, 2-метил-1-пропіл, пентил і гексил. "C<sub>1-4</sub>-алкіл" відноситься до розгалуженої або нерозгалуженої алкільної групи, що має від одного до чотирьох атомів вуглецю, включно, такої як метил, етил, 1-пропіл, 2-пропіл, 1-бутил, 2-бутил, 2-метил-2-пропіл і 2-метил-1-пропіл. "C<sub>1-3</sub>-алкіл" відноситься до розгалуженої або нерозгалуженої алкільної групи, що має від одного до трьох атомів вуглецю, включно, такої як метил, етил, 1-пропіл, 2-пропіл.

Аналогічним чином, "C<sub>2-10</sub>-алкеніл" і "C<sub>2-10</sub>-алкініл" позначають розгалужені або нерозгалужені алкенільні і алкінільні групи, відповідно, що мають від двох до десяти атомів вуглецю, що включають один подвійний зв'язок і один потрійний зв'язок, відповідно, такі як етеніл, пропеніл, бутеніл, етиніл, пропініл і бутиніл. "C<sub>2-6</sub>-алкеніл" і "C<sub>2-6</sub>-алкініл" позначають розгалужені або нерозгалужені алкенільні і алкінільні групи, відповідно, що мають від двох до шести атомів вуглецю, що включають один подвійний зв'язок і один потрійний зв'язок, відповідно, такі як етеніл, пропеніл, бутеніл, етиніл, пропініл і бутиніл. "C<sub>2-4</sub>-алкеніл" і "C<sub>2-4</sub>-алкініл" позначають розгалужені або нерозгалужені алкенільні і алкінільні групи, відповідно, що мають від двох до чотирьох атомів вуглецю, що включають один подвійний зв'язок і один потрійний зв'язок, відповідно, такі як етеніл, пропеніл, бутеніл, етиніл, пропініл і бутиніл. "C<sub>2-3</sub>-алкеніл" і "C<sub>2-3</sub>-алкініл" позначають розгалужені або нерозгалужені алкенільні і алкінільні групи, відповідно, що мають від двох до трьох атомів вуглецю, що включають один подвійний зв'язок і один потрійний зв'язок, відповідно, такі як етеніл, пропеніл, етиніл і пропініл.

Терміни "C<sub>1-10</sub>-алкокси", "C<sub>1-10</sub>-алкілтіо", "C<sub>1-10</sub>-алкіламіно" і "ди-(C<sub>1-10</sub>-алкіл)аміно" тощо позначають такі групи, в яких алкільною групою є C<sub>1-10</sub>-алкіл, визначений вище. Терміни "C<sub>1-6</sub>-алкокси", "C<sub>1-6</sub>-алкілтіо", "C<sub>1-6</sub>-алкіламіно" і "ди-(C<sub>1-6</sub>-алкіл)аміно" тощо позначають такі групи, в яких алкільною групою є C<sub>1-6</sub>-алкіл, визначений вище. Терміни "C<sub>1-4</sub>-алкокси", "C<sub>1-4</sub>-алкілтіо", "C<sub>1-4</sub>-алкіламіно" і "ди-(C<sub>1-4</sub>-алкіл)аміно" тощо позначають такі групи, в яких алкільною групою є C<sub>1-4</sub>-алкіл, визначений вище. Терміни "C<sub>1-3</sub>-алкокси", "C<sub>1-3</sub>-алкілтіо", "C<sub>1-3</sub>-алкіламіно" і "ди-(C<sub>1-3</sub>-алкіл)аміно" тощо позначають такі групи, в яких алкільною групою є C<sub>1-3</sub>-алкіл, визначений вище.

Галоген означає фтор, хлор бром або йод.

Термін "арил" відноситься до моно- або біциклічної карбоциклічної ароматичної групи, такої як феніл або нафтил, зокрема феніл.

Арилокси, арилтіо відноситься до такої групи, в якій арил є таким, як визначено вище.

Термін "гетероарил" відноситься до 5- або 6-членної моноциклічної гетероароматичної групи або біциклічної гетероароматичної групи. Відповідним чином гетероарильна група містить 1-3 гетероатоми, вибрані з O, S і N.

R<sup>0</sup> і R<sup>1</sup> можуть разом утворювати ланцюг з 3-5 атомів вуглецю, утворюючи таким чином ангідрид.

Коли Z являє собою -CH<sub>2</sub>-N(R'R''), де R' і R'' зв'язані один з одним з утворенням циклічної структури, що включає N-атом, до якого вони приєднані, циклічна структура утворює групи, такі як групи, що включають піперидин, піролідін, морфолін і піперазін.

HOBT позначає гідроксibenзотриазол, а rPr означає пентафторфенол.

Експериментальні дані

У наступних прикладах % конверсії і оптична чистота вимірювалися і обчислювалися, як описано нижче:

Умови ВЕРХ аналізу (для ступеня конверсії), використовувані для прикладів 1-28:

Колонка: YMC-Pack ODS-A 0,46см I.D. (внутрішній діаметр)×25см (виробник - фірма YMC Co., LTD)

Елюент: 25мМ фосфатний буфер/ацетонітрил = 60/40

Витрата: 1,0мл/хв.

Температура: 40°C

Детекторна довжина хвилі: 237нм

Умови ВЕРХ аналізу (для ступеня конверсії), використовувані для прикладів 29-42:

Колонка: колонка Lichrospher RP-8, 250×4мм (розмір частинок 5мкм)

Елюент: забуферений MeOH/вода, одержаний таким чином: 1,1мл Et<sub>3</sub>N, доданий до 150мл води, 10% H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (водн.) додається до pH=7 і додається вода до загального об'єму 200мл. Суміш додається до 1,8л MeOH.

Температура: 35°C

Витрата: 1мл/хв.

Тиск: 16,0МПа

Детекція: УФ 254нм

Інжекційний об'єм: 10мкл

Ступінь конверсії (%) = P/(S+P)×100 (P: кількість продукту, S: кількість залишкового субстрату).

Умови ВЕРХ аналізу (для ступеня конверсії), використовувані для прикладів 1-28:

Колонка: Chiralpak AD 0,46см I.D. × 25см (виробник - фірма DAICEL CHEMICAL INDUSTRIES, LTD)

Елюент: гептан/метанол/етанол/діетиламін = 85/7,5/7,5/0,1

Витрата: 1,0мл/хв.

Температура: 30°C

Детекторна довжина хвилі: 240нм

Ступінь конверсії (%) =  $P/(S+P) \times 100$ , (P - кількість продукту, S - кількість залишкового субстрату).

Суперкритична рідинна хроматографія: Умови аналізу (для оптичної чистоти), використовувані для прикладів 29-42:

Колонка: Daicel AD колонка з розмірами 250×4,6мм (розмір частинок 5мкм)

Рухома фаза: діоксид вуглецю

Модифікатор: метанол з діетиламіном (0,5%) і трифторооцтовою кислотою (0,5%).

Гradient модифікатора: 1-2% за 4 хвилини

2-4% за 4 хвилини

4-8% за 4 хвилини

8-16% за 4 хвилини

16-32% за 4 хвилини

32-45% за 1,62 хвилини

Температура: температура навколишнього середовища

Витрата: 2мл/хв.

Тиск: 20мПа

Детекція: УФ 230нм і 254нм

Інжекційний об'єм: 10мкл

Оптична чистота (%ee) =  $(A-B)/(A+B) \times 100$ , (A і B являють собою відповідний стереоізомер, A>B)

Е-значення =  $\ln((1-c/100) \times (I-Es/100)) / \ln((1-c/100) \times (I+Es/100))$

(с: ступінь конверсії, Es: оптична чистота залишкового субстрату).

Приклад 1

(S)-4-[4-Диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрил

Воду (200,7г) і толуол (440,8г) додавали до (±)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу, 1/2 солі сірчаної кислоти (100,4г, 0,257моль), потім суміш перемішували протягом 15 хвилин і її температуру підняли до 60°C. Далі, по краплях, впродовж 5 хвилин додавали 30% NaOH (34,5г, 0,259моль) до тих пір, поки рН водного шару не досягнув 11,4, та суміш перемішували протягом 30 хвилин. Після перемішування суміш залишали відстоюватися протягом 5 хвилин і вона розділялася. Водний шар відкидали, а одержаний таким чином органічний шар промивали 220,0г води і далі концентрували при зниженому тиску при 60°C для видалення залишкової вологи. Концентрацію доводили додаванням толуолу і одержали таким чином 583,1г розчину 4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу в толуолі (вміст чистого 4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу: 87,6г, вихід: 99,7%, 0,256 моль). Потім 52,5г толуолу виливали на 17,5г іммобілізованого ферменту (Novozym 435), потім додавали 583,1г розчину 4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу у толуолі та температуру суміші доводили до 40°C. Далі, впродовж 20 хвилин, у вказану вище суміш додавали змішаний розчин, що містить триметилоцтову кислоту (28,7г, 0,281моль), вінілбутират (29,2г, 0,256моль) і толуол (28,8г), і суміш перемішували при 40°C протягом 12 годин в слабкому струмені азоту. Після охолодження суміші впродовж 2 годин так, щоб температура досягла 20°C, суміш перемішували протягом 1 години при тій же температурі та перемішування припиняли. Фермент відфільтрували, а потім промивали двічі 105г толуолу та дані толуольні шари об'єднували. Толуольний шар містив 583,1г розчину 4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу в толуолі (вміст чистого (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу: 36,0г, вихід в результаті процесу ферментативного розщеплення: 41,1%, 0,105моль). Змішаний розчин, що містив супернатант і промивну рідину, екстрагували тричі водою (438г, 263г×2) і 1005,4г одержаного водного шару промивали п'ять разів 79г толуолу. В результаті одержували 985,2г водного розчину солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (вміст чистого (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу: 32,6г, вихід (в результаті процесу від екстрагування водою до промивки толуолом): 90,6%, 0,0952моль). До одержаного таким чином 985,2г водного розчину солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу додавали 218,2г толуолу. Далі, до суміші при перемішуванні повільно додавали 30% NaOH (13,3г, 0,0998моль) до тих пір, поки рН водного шару не досягнув 11,9, і суміш перемішували протягом 30 хвилин. Після перемішування суміш залишили стояти на 30 хвилин, і толуольний шар відділили, а водний шар, що залишився, повторно екстрагували 142,5г толуолу. Об'єднаний толуольний шар промивали двічі 169,0г води, концентрували при 60°C при зниженому тиску, одержуючи таким чином 64,0г розчину (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу в толуолі. Вказаний толуольний розчин містив 32,0г (0,0935моль) (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу. Загальний вихід складав 36,4%. Оптична чистота, визначена за допомогою ВЕРХ, складала 98,7% ee, а хімічна чистота складала 99,9% за площею {(R)-5-ціано-2-[диметиламіно-(4'-фторфеніл)-гідроксибутил]бензилбутират: 0,04% за площею}.

У описаній вище системі вказана вище "хімічна чистота" представлена наступним рівнянням.

(Хімічна чистота) =  $\frac{\text{Величина площі 4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу}}{(\text{Величина площі всіх виявлених сполук}) - (\text{Величина площі толуолу}) - (\text{Величина площі, виведена з системи})} \times 100$  (% площі).

Приклад 2

У пробірку, оснащену пробкою, завантажували 50мг (0,146ммоль) (±)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-

фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу, 25мг ліпаз різних видів, 33мг (0,29ммоль) вінілбутирату і 1мл толуолу і суміш перемішували при 40°C протягом 16 годин. Для субстрату з оптичною чистотою принаймні 50% її обчислювали Е-величини. Результати наведені в Таблиці 1.

Таблиця 1

Фермент	Джерело	Конверсія (%)	Оптична чистота (% е.е.)	Конфігурація	Е-величина
LipoZyme TL IM (від Novozymes A/S)	Thermomyces lanuginosus	97,8	62,7	(R)	1
Novozyme 435 (від Novozymes A/S)	Candida antarctica	59,7	96,4	(S)	18
Без ферменту		1,16			

#### Приклад 3

У пробірку, оснащену пробкою, завантажували 10-100мг (0,029-0,29ммоль) ( $\pm$ )-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу, 10-100мг Novozym 435 (продукт від Novozymes, E/S співвідношення = 1,0), 33-333мг (10екв.) вінілбутирату та 1мл толуолу і суміш перемішували при 30°C протягом 16 годин. Результати наведені в Таблиці 2.

Таблиця 2

Концентрація (%)	Конверсія (%)	Оптична чистота (% е.е.)	Конфігурація	Е-величина
1	52,9	93,7	(S)	38
2	54,2	88,6	(S)	20
5	63,1	87,9	(S)	9
10	65,0	92,6	(S)	9

#### Приклад 4

У пробірку, оснащену пробкою, завантажували 100мг (0,292ммоль) ( $\pm$ )-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу, 50мг Novozym 435 (продукт від Novozymes), 333мг (2,92ммоль) вінілбутирату, 0,292ммоль домішок різних видів і 1мл толуолу і суміш перемішували при 40°C протягом 16 годин. Результати наведені в Таблиці 3.

Таблиця 3

Домішки	Конверсія (%)	Оптична чистота (% е.е.)	Конфігурація	Е-величина
Сірчана кислота	39,8	14,7	(S)	2
Оцтова кислота	34,4	46,0	(S)	24
Соляна кислота	27,1	16,2	(S)	3
Бензойна кислота	62,9	98,2	(S)	16
Триетиламін	74,8	99,7	(S)	11
Піридин	65,4	96,5	(S)	11
А триетиламін бензойної кислоти	66,0	92,0	(S)	8
А піридин бензойної кислоти	58,1	97,3	(S)	23
Без домішок	73,5	97,4	(S)	8

#### Приклад 5

У 200-мл чотиригорловій колбі, що забезпечена мішалкою і термометром, в 30мл толуолу розчиняли 1,5г (4,38ммоль) ( $\pm$ )-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу, потім додавали 0,45г Novozym 435 (продукт від Novozymes), 0,347г (4,38ммоль) піридину, 4,38ммоль різного виду кислот і 1,00г (8,76ммоль) вінілбутирату і суміш перемішували при 40°C протягом 16-21,5 годин. Результат представлений в Таблиці 4.

Таблиця 4

Кислота	Конверсія (%)	Оптична чистота (% е.е.)	Конфігурація	Е-величина
Саліцилова кислота	54,7	95,9	(S)	33
p-Етилбензойна кислота	64,9	97,5	(S)	13
o-Толуїлова кислота	64,5	97,3	(S)	13
m-Толуїлова кислота	66,3	96,6	(S)	11
p-Толуїлова кислота	55,4	98,9	(S)	44
o-Анісова кислота	59,3	94,9	(S)	17
4-Хлорфенілоцтова кислота	59,5	96,3	(S)	18
3-Фенілпропіонова кислота	46,2	74,4	(S)	31
1-Нафтоїна кислота	67,8	83,3	(S)	6
Бензойна кислота	59,7	99,9	(S)	37
Масляна кислота	53,7	89,6	(S)	24
Ізомасляна кислота	61,8	97,1	(S)	16
Ізовалеріанова кислота	55,3	94,8	(S)	27
Триметилоцтова кислота	58,2	97,8	(S)	25

Капронова кислота	60,3	96,1	(S)	17
Циклогексанкарбонова кислота	55,2	95,4	(S)	30
Без кислоти	59,1	95,5	(S)	18

#### Приклад 6

У 200-мл чотиригорловій колбі, що забезпечена мішалкою і термометром, в 30мл толуолу розчиняли 3,0г (8,76ммоль) ( $\pm$ )-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу, потім додавали 0,9г Novozym 435 (продукт від Novozymes), 0,693г (8,76ммоль) піридину, 8,76ммоль різного виду кислот і 2,00г (17,52ммоль) вінілбутирату і суміш перемішували при 40°C протягом 15,5-16,5 годин. Результати наведені в Таблиці 5.

Таблиця 5

Кислота	Час реакції (години)	Конверсія (%)	Оптична чистота (% е.е.)	Конфігурація	Е-величина
о-Толуїлова кислота	16,5	59,8	97,9	(S)	21
р-Толуїлова кислота	19,5	35,8	29,8	(S)	4
Бензойна кислота	17	25,6	28,4	(S)	14
Триметилоцтова кислота	15	62,4	99,6	(S)	23
Циклогексанкарбонова кислота	16,5	59,4	97,0	(S)	20

#### Приклад 7

У 200-мл чотиригорловій колбі, що забезпечена мішалкою і термометром, в 30мл толуолу розчиняли 4,5г (13,1ммоль) ( $\pm$ )-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу, потім додавали 0,90г Novozym 435 (продукт від Novozymes), 2,68г (26,2ммоль) триметилоцтової кислоти і 0,900-1,500г (0,6-1,0екв.) вінілбутирату і суміш перемішували при 40°C протягом 24 годин. Результати наведені в Таблиці 6.

Таблиця 6

Еквівалент вінілбутирату	Конверсія (%)	Оптична чистота (% е.е.)	Конфігурація	Е-величина
0,6	45,8	73,8	(S)	32
0,8	54,4	95,9	(S)	35
1,0	54,8	96,5	(S)	35

#### Приклад 8

У 500-мл роз'ємній колбі, що забезпечена мішалкою і термометром, в 144мл толуолу розчиняли 20,0г (58,4ммоль) ( $\pm$ )-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу, потім додавали триметилоцтову кислоту (1,1-3екв.), 4,0г Novozym 435 (продукт від Novozymes) і 6,67г (58,4ммоль) вінілбутирату та суміш перемішували при 40°C протягом 20-24 годин в струмені азоту (5мл/хв.). Результати наведені в Таблиці 7.

Таблиця 7

Еквівалент триметилоцтової кислоти	Час реакції (години)	Конверсія (%)	Оптична чистота (% е.е.)	Конфігурація	Е-величина
0	21,5	70,7	98,0	(S)	9
1,1	21	59,9	98,2	(S)	21
1,5	20	58,0	98,0	(S)	26
2,0	21	56,9	98,0	(S)	31
3,0	24	55,2	97,3	(S)	35

#### Приклад 9

У пробірку, оснащену пробкою, завантажували 10мг (0,029ммоль) ( $\pm$ )-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу, 10мг Novozym 435 (продукт від Novozymes), 0,29ммоль ацильного донора різних видів і 1мл діізопропілового етеру і суміш перемішували при 30°C протягом 16 годин. Для субстрату з оптичною чистотою принаймні 30% її обчислювали Е-величини. Результати наведені в Таблиці 8.

Таблиця 8

Ацильний донор	Конверсія(%)	Оптична чистота (% е.е.)	Конфігурація	Е-величина
Вінілацетат	55,0	35,9	(S)	3
Вінілпропіонат	46,8	53,9	(S)	7
Вінілбутират	66,3	98,3	(S)	13
Вінілкапроат	4,6			
n-Масляний ангідрид	69,0	76,7	(S)	4
ізо-Валеріановий ангідрид	38,6	5,80	(S)	
ізо-Масляний ангідрид	32,5	3,30	(S)	

#### Приклад 10

У пробірку, оснащену пробкою, завантажували 10мг (0,029ммоль) ( $\pm$ )-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу, 10мг Novozym 435 (продукт від Novozymes), 33мг (0,29ммоль) вінілбутирату і 1мл розчинників різних видів і суміш перемішували при 30°C протягом 16 годин. Після завершення реакції аналізували коефіцієнти конверсії та оптичну чистоту і обчислювали E-величини. Результати наведені в Таблиці 9.

Таблиця 9

Розчинник	Конверсія(%)	Оптична чистота(% е.е.)	Конфігурація	E-величина
трет-Бутилметилловий етер	59,3	91,8	(S)	14
1,4-діоксан	11,1			
Тетрагідрофуран	6,19			
Діізопропіловий етер	66,3	98,3	(S)	13
Діетиловий етер	59,7	95,8	(S)	17
Ацетон	11,8			
Метилізобутилкетон	33,0			
Етанол	7,09			
Бутанол	6,56			
Етилацетат	10,8			
Бутилацетат	11,7			
Толуол	52,9	93,7	(S)	38
Гексан	40,7			
Дихлоретан	13,8			
Ацетонітрил	25,5			
Диметилформамід	5,83			
Диметилсульфоксид	8,78			
Вінілбутират	57,0	95,0	(S)	22

#### Приклад 11

У 200-мл чотиригорлову колбу, що забезпечена мішалкою і термометром, завантажували 0,9-1,35г (E/S співвідношення складало 0,2-0,3) Novozym 435 (продукт від Novozym). Потім у колбу додавали розчин 4,5г (13,1ммоль) ( $\pm$ )-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу в 30мл толуолу, 2,01г триметилоцтової кислоти (19,7ммоль) і 1,50г (13,1ммоль) вінілбутирату та суміш перемішували при температурі 35-45°C протягом 21 години. Після закінчення реакції реакційну рідину відділяли за допомогою декантації, а фермент, що залишився, промивали 30мл толуолу та виділили. Ту ж саму операцію, що описана вище, за винятком використання виділеного ферменту, повторювали чотири рази для здійснення реакції рециркуляції. Активності ферментів обчислювали згідно з наступним рівнянням. Результати наведені в Таблиці 10.

Активність ферменту (U/g)=(Кількість продукту, одержаного за хвилину (мкмоль/хв.))/(Маса ферменту (г))

Таблиця 10

Порції	Активність ферменту (U/g)		
	35°C (E/S=0,30)	40°C (E/S=0,25)	45°C (E/S=0,20)
1	8,61	12,75	17,37
2	10,31	12,93	17,70
3	9,75	12,50	15,48
4	9,39	12,16	15,06
5	9,01	11,14	13,10

#### Приклад 12

Сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу

У чотиригорлову колбу, що забезпечена мішалкою і термометром, завантажували 66,6г розчину 10,0г (0,029ммоль) ( $\pm$ )-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу в толуолі та його температуру регулювали так, щоб вона складала 40°C. Потім у вказану суміш додавали 2,27г (0,029ммоль) піридину, 2,98г (0,029ммоль) триметилоцтової кислоти, 3,35г (0,029ммоль) вінілбутирату і 2,0г іммобілізованого ферменту (Novozym 435). Реакційну суміш перемішували при 40°C протягом 15 годин в слабкому струмені азоту та перемішування припиняли. Фермент відфільтрували від реакційної суміші за допомогою лійки Kiriya та промили 21,6г толуолу. В результаті одержали сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (3,6г, 0,011ммоль, вихід: 36,0%, оптична чистота: 98,5% е.е.).

Об'єднаний толуольний шар тричі промивали водою (50мл, 30мл, 30мл) при 20°C і одержали водний шар, що містив сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (3,5г, 0,011ммоль, екстракційний вихід: 95%).

#### Приклад 13

Сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу

У чотиригорлову колбу, забезпечену мішалкою і термометром, завантажували 66,7г розчину 20,0г

(0,058моль) ( $\pm$ )-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу в толуолі та його температуру регулювали так, щоб вона складала 40°C. Потім у вказану суміш додавали 5,93г (0,058моль) триметилоцтової кислоти, 6,62г (0,058моль) вінілбутирату і 4,1г іммобілізованого ферменту (Novozym 435). Реакційну суміш перемішували при 40°C протягом 18 годин в слабкому струмені азоту та перемішування припиняли. Фермент відфільтровували від реакційної суміші за допомогою лійки Kiriуата і промивали 41,3г толуолу. В результаті одержали 6,7г (0,020моль) солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу в розчині толуолу з виходом 33,5% і оптичною чистотою 99,7% ee.

#### Приклад 14

Сіль циклогексанкарбонової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу

У чотиригорлову колбу, забезпечену мішалкою і термометром, завантажували 250,0г розчину 25,0г (0,073моль) ( $\pm$ )-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу в толуолі та його температуру регулювали так, щоб вона складала 40°C. Потім у вказану суміш додавали 5,77г (0,073моль) піридину, 8,33г (0,073моль) вінілбутирату, 9,52г (0,073моль) циклогексанкарбонової кислоти і 5,0г іммобілізованого ферменту (Novozym 435). Реакційну суміш перемішували при 40°C протягом 17,5 годин в слабкому струмені азоту, перемішування припиняли. Фермент відфільтровували і промивали 54,1г толуолу. В результаті одержували толуольний шар, який містив сіль циклогексанкарбонової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (8,6г, 0,025моль, вихід: 34,4%, оптична чистота: 98,7% ee).

Об'єднаний толуольний шар промивали водою п'ять разів (187,5мл $\times$ 5) при 20°C і одержували водний шар, що містить сіль циклогексанкарбонової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (7,6г, 0,0221моль, екстракційний вихід: 89%).

#### Приклад 15

Сіль о-толуїлової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфетл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу

У чотиригорлову колбу, забезпечену мішалкою і термометром, завантажували 250,0г розчину 25,0г (0,073моль) ( $\pm$ )-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу в толуолі та його температуру регулювали так, щоб вона складала 40°C. Потім у вказану суміш додавали 5,77г (0,073моль) піридину, 8,33г (0,073моль) вінілбутирату, 9,93г (0,073моль) о-толуїлової кислоти та 5,0г іммобілізованого ферменту (Novozym 435). Реакційну суміш перемішували при 40°C протягом 21 години в слабкому струмені азоту і потім перемішування припиняли. Фермент відфільтровували від реакційної суміші за допомогою лійки Kiriуата і промивали 54,1г толуолу. В результаті одержували толуольний шар, що містить сіль о-толуїлової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (9,7г, 0,028моль, вихід: 38,8%, оптична чистота: 97,8% ee).

Об'єднаний толуольний шар тричі промивали водою (250мл, 63мл, 63мл) при 60°C і одержували водний шар, що містить сіль о-толуїлової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (7,8г, 0,0228моль, екстракційний вихід: 80%).

#### Приклад 16

Сіль ізомасляної кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу

У чотиригорлову колбу, забезпечену мішалкою і термометром, завантажували 33,3г розчину 10,0г (0,029моль) ( $\pm$ )-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу в толуолі та його температуру регулювали так, щоб вона складала 40°C. Потім у вказану суміш додавали 2,29г (0,029моль) піридину, 2,57г (0,029моль) ізомасляної кислоти, 3,33г (0,029моль) вінілбутирату і 2,0г іммобілізованого ферменту (Novozym 435). Реакційну суміш перемішували при 40°C протягом 24 годин в слабкому струмені азоту і перемішування припиняли. Фермент відфільтровували від реакційної суміші за допомогою лійки Kiriуата і промивали 21,6г толуолу. В результаті одержували толуольний шар, що містить сіль ізомасляної кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (3,8г, 0,011моль, вихід: 38,0%, оптична чистота: 95,9% ee).

#### Приклад 17

Сіль бензойної кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу

У чотиригорлову колбу, забезпечену мішалкою і термометром, завантажували 250,0г розчину 50,0г (0,146моль) ( $\pm$ )-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу в толуолі та його температуру регулювали так, щоб вона складала 40°C. Потім у вказану суміш додавали 11,5г (0,146моль) піридину, 33,2г (0,291моль) вінілбутирату, 17,8г (0,146моль) бензойної кислоти і 10,0г іммобілізованого ферменту (Novozym 435). Реакційну суміш перемішували при 40°C протягом 20 годин в слабкому струмені азоту і перемішування припиняли. Фермент відфільтровували від реакційної суміші за допомогою лійки Kiriуата і промивали 108г толуолу. В результаті одержували толуольний шар, що містить сіль бензойної кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (22,0г, 0,064моль, вихід: 44,0%, оптична чистота: 99,0% ee).

Об'єднаний толуольний шар тричі промивали водою (500мл $\times$ 3) при 60°C і одержували водний шар, що містить сіль бензойної кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (21,0г, 0,0614моль, екстракційний вихід: 96%).

Наступні приклади 18-28 ілюструють виділення S-діолу з реакційної суміші.

#### Приклад 18

У пробірку, оснащену пробкою, завантажували 4,3мг (0,0126ммоль) (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (сполука А), 6,8мг (0,0165ммоль) (R)-5-ціано-2-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-бензилбутирату (сполука В), 1мл толуолу, 1мл води і 0,291ммоль кислот різного виду (у разі двоосновної кислоти використовували 0,146ммоль) і суміш перемішували при 40°C протягом 1 години. Одержаний таким чином змішаний розчин розділявся на водний

і толуольний шари, а потім в кожному шарі вимірювали концентрації сполук А і В. Коефіцієнти розподілу Ка або Кb обчислювали згідно з наступним рівнянням. Результати наведені в Таблиці 11.

$K_a = (\text{Концентрація сполуки А у водному шарі}) / (\text{Концентрація сполуки А в толуольному шарі})$

$K_b = (\text{Концентрація сполуки В у водному шарі}) / (\text{Концентрація сполуки В у толуольному шарі})$

Таблиця 11

Кислоти	Коефіцієнти розподілу		Ka/Kb
	Ka	Kb	
o-Нітробензойна кислота	30,7	0,45	68,3
m-Нітробензойна кислота	19,5	0,08	237
Саліцилова кислота	13,0	0,06	212
p-Гідроксибензойна кислота	70,8	0,31	226
o-Хлорбензойна кислота	22,8	0,30	76,7
m-Хлорбензойна кислота	4,98	0,04	122
p-хлорбензойна кислота	7,01	0,06	123
p-фторбензойна кислота	14,4	0,12	120
p-Етилбензойна кислота	2,28	0,03	73,0
o-Толуїлова кислота	9,11	0,05	172
m-Толуїлова кислота	6,00	0,03	215
p-толуїлова кислота	5,97	0,02	249
o-Метоксибензойна кислота	27,1	0,38	71,1
m-Метоксибензойна кислота	9,23	0,07	136
p-Метоксибензойна кислота	12,3	0,10	122
4-Біфенілкарбонова кислота	0,87	0,04	24,9
3-Фенілпропіонова кислота	5,67	0,02	229
Бензойна кислота	18,4	0,08	244
Ізомасляна кислота	39,2	0,17	225
Ізовалеріанова кислота	24,4	0,10	241
Триметилоцтова кислота	9,03	0,10	92,6
Капронова кислота	5,04	0,03	181
Циклогексанкарбонова кислота	3,89	0,03	168
Фталева кислота	20,8	0,33	63,8
Ізофталева кислота	7,43	0,29	25,4
Терефталева кислота	16,8	0,15	113
p-Толуолсульфонова кислота	164	3,61	45,4
Малонова кислота	38,5	1,29	29,8
Щавлева кислота	1092	5,73	190
Бурштинова кислота	24,1	0,44	54,6
Малеїнова кислота	31,1	1,03	30,0
Без кислоти	0,17	0,08	2,2

#### Приклад 19

Сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу

Фермент відфільтровували від реакційної ферментної суміші, одержаної за способом згідно з Прикладом 1, і двічі промивали толуолом. У одержані таким чином 1174,3г толуольного розчину, що містить сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (44,8г, 0,131ммоль), додавали 600,3г води і суміш екстрагували. Подальша двократна екстракція 359,7г води давала 1375,9г водного розчину солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу. Водний розчин містив 43,8г (0,128ммоль, вихід: 97,8%) (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу. Оптична чистота: 98,4% ee, (R)-5-ціано-2-[диметиламіно-(4'-фторфеніл)-гідроксибутил]-бензилбутират: 10,7% за площею.

#### Приклад 20

Сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу

До 12,6г водного розчину солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу {міст (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу: 0,4г, 1,168ммоль}, одержаному окремо за способом Прикладу 19, додавали 1,4г (0,018ммоль) ацетату амонію. Потім туди додавали 1,0г толуолу та суміш перемішували 10 хвилин. Після витримування протягом 30 хвилин, органічний шар відкидали завдяки розділенню розчину суміші та одержували водний шар, що містить сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (0,389г, 1,136ммоль, вихід: 97,3%). За допомогою аналізу ВЕРХ було знайдено, що хімічна чистота складала 97,3% за площею, а (R)-5-ціано-2-[диметиламіно-(4'-фторфеніл)-гідроксибутил]-бензилбутирату містилося 1,5% за площею.

#### Приклад 21

Сіль триметилоцтової (півалінової) кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу

До 12,6г водного розчину солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-

гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу {вміст (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу: 0,4г, 1,168ммоль}, одержаному окремо за способом Прикладу 19, додавали 1,4г (0,013ммоль) сульфату літію. Потім туди додавали 1,0г толуолу та суміш перемішували протягом 10 хвилин. Після витримання протягом 30 хвилин, органічний шар відкидали завдяки розділенню розчину суміші та одержували водний шар, що містить сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (0,394г, 1,151ммоль, вихід: 98,5%). За допомогою аналізу ВЕРХ було знайдено, що хімічна чистота складала 93,7% за площею, а (R)-5-ціано-2-[диметиламіно-(4'-фторфеніл)-гідроксибутил]-бензилбутират містилося 5,5% за площею.

#### Приклад 22

Сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу

До 12,6г водного розчину солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу {вміст (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу: 0,4г, 1,168ммоль}, одержаному окремо за способом Прикладу 19, додавали 1,4г (0,011ммоль) сульфату амонію. Потім додавали 1,0г толуолу та суміш перемішували протягом 10 хвилин. Після витримання протягом 30 хвилин, органічний шар відкидали завдяки розділенню розчину суміші та одержували водний шар, що містить сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (0,397г, 1,159ммоль, вихід: 99,3%). За допомогою аналізу ВЕРХ було знайдено, що хімічна чистота складала 94,7% за площею, а (R)-5-ціано-2-[диметиламіно-(4'-фторфеніл)-гідроксибутил]-бензилбутирату містилося 4,5% за площею.

#### Приклад 23

Сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу

До 12,6г водного розчину солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу {вміст (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу: 0,4г, 1,168ммоль}, одержаному окремо за способом з Прикладу 19, додавали 1,4г (0,0099ммоль) сульфату натрію. Потім додавали 1,0г толуолу та суміш перемішували протягом 10 хвилин. Після витримання протягом 30 хвилин, органічний шар відкидали завдяки розділенню розчину суміші та одержували водний шар, що містить сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (0,391г, 1,142ммоль, вихід: 97,8%). За допомогою аналізу ВЕРХ було знайдено, що хімічна чистота складала 94,5% за площею, а (R)-5-ціано-2-[диметиламіно-(4'-фторфеніл)-гідроксибутил]-бензилбутирату містилося 4,7% за площею.

#### Приклад 24

Сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу

До 12,6г водного розчину солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу {вміст (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу: 0,4г, 1,168ммоль}, одержаному окремо за способом Прикладу 19, додавали 0,7г (0,012ммоль) хлориду натрію. Потім додавали 1,0г толуолу та суміш перемішували протягом 10 хвилин. Після витримання протягом 30 хвилин, органічний шар відкидали завдяки розділенню розчину суміші та одержували водний шар, що містить сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (0,397г, 1,159ммоль, вихід: 99,3%). За допомогою аналізу ВЕРХ було знайдено, що хімічна чистота складала 93,3% за площею, а (R)-5-ціано-2-[диметиламіно-(4'-фторфеніл)-гідроксибутил]-бензилбутирату містилося 5,8% за площею.

Приклади 20-24 порівняно з прикладом 19 показують, що розділення поліпшується завдяки додаванню солей.

#### Приклад 25

Сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу

Фермент відфільтровували від реакційної ферментної суміші, одержаної за способом з Прикладу 1, і двічі промивали толуолом. Одержані таким чином 19,4г толуольного розчину, що містить 1,0г (2,92ммоль) солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу, доводили до 40°C, потім додавали 13мл води і розчин екстрагували. Розчин потім екстрагували двічі 7,5мл води, одержуючи розчин солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу. У вказаному водному розчині містилося 0,886г (2,588ммоль, вихід: 88,6%) (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу.

#### Приклад 26

Сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу

Фермент відфільтровували від реакційної ферментної суміші, одержаної за способом з Прикладу 1, і двічі промивали толуолом. Одержані таким чином 19,4г толуольного розчину, що містить 1,0г (2,92ммоль) солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу, доводили до 40°C, потім додавали 11,6мл води та розчин екстрагували. Розчин потім екстрагували тричі 5,8мл води, одержуючи розчин солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу. У вказаному водному розчині містилося 0,879г (2,567ммоль, вихід: 87,9%) (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу.

#### Приклад 27

Сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу

Фермент відфільтровували від реакційної ферментної суміші, одержаної за способом з Прикладу 1, і двічі промивали толуолом. До 10,4г одержаного таким чином толуольного розчину, що містить 1,0г



(2,92ммоль) солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу, додавали 13мл води та розчин екстрагували. Розчин потім екстрагували двічі 7,5мл води, одержуючи водний розчин солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу. У вказаному водному розчині містилося 0,954г (2,786ммоль, вихід: 95,4%) (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу.

#### Приклад 28

Сіль триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу

Фермент відфільтровували від реакційної ферментної суміші, одержаної за способом з Прикладу 1, і двічі промивали толуолом. До 19,4г одержаного таким чином толуольного розчину, що містить 1,0г (2,90ммоль) солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу, додавали 0,43г (4,210ммоль) триметилоцтової кислоти та суміш екстрагували 13,0мл води. Розчин потім екстрагували двічі 7,5мл води, одержуючи водний розчин солі триметилоцтової кислоти і (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу. У вказаному водному розчині містилося 0,947г (2,766ммоль, вихід: 94,7%) (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу.

Порівняння прикладів 25, 26, 27 і 28 показує, що поліпшене розділення досягається за допомогою додавання триметилоцтової кислоти, тоді як додаткова промивка і регулювання температури не має значного впливу на розділення.

#### Приклад 29

(S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрил

До перемішаного розчину рацемічного 4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (0,29ммоль, 100мг) і вінілбутирату (3,9ммоль, 0,5мл) в безводному 1,4-діоксані (2,5мл) додавали ліпопротеїдліпазу *Pseudomonas* sp. (160 U, 5мг). Реакційну суміш нагрівали до 37°C з подальшим аналізом ВЕРХ. Через 162 години (при конверсії 33,9%) фермент відфільтровували та промивали невеликою кількістю 1,4-діоксану. Об'єднані органічні шари випаровували у вакуумі та потім аналізували за допомогою суперкритичної рідинної хроматографії, одержуючи (R)-бутиратний естер 72% ee і (S)-діол 28% ee.

#### Приклад 30

(S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрил

До перемішаного розчину рацемічного 4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (0,29ммоль, 100мг) і вінілбутирату (0,58ммоль, 73,6мкл) в безводному 1,4-діоксані (3,0мл) додавали ліпопротеїдліпазу *Pseudomonas* sp. (160 U, 4мг). Реакційну суміш нагрівали до 37°C з подальшим аналізом ВЕРХ. Через 194 години (при конверсії 18,7%) фермент відфільтровували та промивали невеликою кількістю 1,4-діоксану. Об'єднані органічні фази випаровували у вакуумі та потім аналізували за допомогою суперкритичної рідинної хроматографії, одержуючи (R)-бутиратний естер 92% ee і (S)-діол 14% ee. Процес реакції також піддавали вимірковальному контролю з використанням 1,4 і 8 еквівалентів вінілбутирату, як наведено в Таблиці 12.

Таблиця 12

Запис	Вінілбутират	Час (години)	Конверсія (%)	Естер		Діол	
				% EE	Конфігурація	% EE	Конфігурація
1	1екв.	194	6,2 (0,5)	79	(R)	5	(S)
2	2екв.	194	18,7 (1,0)	92	(R)	14	(S)
3	4екв.	194	19,1 (2,0)	86	(R)	14	(S)
4	8екв.	194	22,6 (4,0)	86	(R)	15	(S)

(Цифри в дужках відносяться до конверсії без ферменту)

#### Приклад 31

(S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрил

До перемішаного розчину рацемічного 4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (0,29ммоль, 100мг) і вінілбутирату (0,59ммоль, 75мкл) в безводному 1,4-діоксані (2,925мл) додавали ліпопротеїдліпазу *Pseudomonas* sp. (160 U, 5мг). Реакційну суміш нагрівали до 50°C з подальшим аналізом ВЕРХ. Через 165 годин при конверсії 30,4% фермент відфільтровували та промивали невеликою кількістю 1,4-діоксану. Об'єднані органічні шари випаровували у вакуумі та потім аналізували за допомогою суперкритичної рідинної хроматографії, одержуючи (R)-бутиратний естер 98,1% ee і (S)-діол 30,3% ee. Процес реакції також піддавали вимірковальному контролю при температурах 25,37 і 65°C, як наведено в Таблиці 13.

Таблиця 13

Запис	Температура	Час (години)	Конверсія (%)	Естер		Діол	
				% EE	Конфігурація	% EE	Конфігурація
1	25°C	238	5,8 (0,5)	97,9	(R)	5,1	(S)
2	37°C	238	12,5 (1,4)	99,1	(R)	8,5	(S)
3	50°C	165	30,4 (1,9)	98,1	(R)	30,3	(S)
4	50°C	238	32,2 (3,0)	97,3	(R)	32,1	(S)
5	65°C	238	26,3 (7,6)	64,1	(R)	21,9	(S)

(Цифри в дужках відносяться до конверсії без ферменту)

#### Приклад 32

(S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрил

До перемішаного розчину рацемічного 4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (0,29ммоль, 100мг) і вінілбутирату (0,59ммоль, 75мкл, 2екв.) в безводному 1,4-діоксані (2,925мл) додавали ліпопротеїдліпазу *Pseudomonas* sp. (160 U, 4,5мг). Реакційну суміш нагрівали до 50°C з наступним аналізом ВЕРХ. Через 209 годин фермент відфільтрували та промивали невеликою кількістю 1,4-діоксану. Об'єднані органічні шари випаровували у вакуумі та потім аналізували за допомогою суперкритичної рідинної хроматографії, одержуючи (R)-бутиратний естер і (S)-діол. Процес реакції також піддавали виміральному контролю при наважках 200мг, 500мг і 1000мг діолу і, відповідно, 150мкл, 375мкл і 750мкл вінілбутирату та і 2,85мл, 2,625мл і 2,25мл 1,4-діоксану, як наведено в таблиці 14.

Таблиця 14

Запис	Концентрація	Час (години)	Конверсія (%)	Естер		Діол	
				% ЕЕ	Конфігурація	% ЕЕ	Конфігурація
1	0,1M	209	30,6 (2,6)	84,1	(R)	33,1	(S)
2	0,2M	209	32,5 (4,9)	62,9	(R)	28,7	(S)
3	0,5M	209	50,6 (29,6)	32,3	(R)	29,1	(S)
4	1,0M	209	69,3 (66,3)	8,7	(R)	24,9	(S)

#### Приклад 33

(S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрил

До перемішаного розчину рацемічного 4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (0,29ммоль, 100мг) і вінілбутирату (0,59ммоль, 75мкл) в безводному 1,4-діоксані (2,925мл) додавали ліпопротеїдліпазу *Pseudomonas* sp. (160 U, 4мг). Реакційну суміш нагрівали до 50°C з подальшим аналізом ВЕРХ. Через 473 години фермент відфільтрували та промивали невеликою кількістю 1,4-діоксану. Об'єднані органічні шари випаровували у вакуумі та потім аналізували за допомогою ВЕРХ. Результат наведений в Таблиці 15.

Таблиця 15

Запис	Добавл. Вода % (мас/мас)	Час (години)	Конверсія (%)
1	0	473	33,9
2	0,1	473	20,1
3	1,0	473	0,1
4	10	473	0

#### Приклад 34

(S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрил

До перемішаного розчину рацемічного 4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (2,9ммоль, 1000мг) і вінілбутирату (5,9ммоль, 750мкл) в безводному 1,4-діоксані (14,25мл) додавали ліпопротеїдліпазу *Pseudomonas* sp. (160 U, 20мг). Реакційну суміш нагрівали до 50°C з подальшим аналізом ВЕРХ. Через 139 годин додатково додавали 5мг ліпази. Через 155 годин додатково додавали 15мг ліпази. Через 399 годин при конверсії 55,7% зразок збирали. Фермент відфільтровували та промивали невеликою кількістю 1,4-діоксану. Об'єднані органічні шари випаровували у вакуумі та потім аналізували за допомогою суперкритичної рідинної хроматографії. Через 560 годин при конверсії 62,8% реакцію припиняли. Фермент відфільтровували та промивали невеликою кількістю 1,4-діоксану. Об'єднані органічні шари випаровували у вакуумі та потім аналізували за допомогою суперкритичної рідинної хроматографії. Одержані еє-величини наведені в Таблиці 16.

Таблиця 16

Запис	Час (години)	Конверсія (%)	Естер		Діол	
			% ЕЕ	Конфігурація	% ЕЕ	Конфігурація
1	399	55,7	75,7	(R)	79,5	(S)
2	560	62,8	59,5	(R)	94,5	(S)

#### Приклад 35

Діольні аналоги (S)-циталопраму

До перемішаного розчину рацемічного діольного аналога (S)-циталопраму (0,29ммоль, 100мг) і вінілбутирату (0,29ммоль, 37мкл) в безводному 1,4-діоксані (2,925мл) додавали 4-10мг ліпопротеїдліпази *Pseudomonas* sp. (PspLL). Реакційну суміш нагрівали до 50°C з подальшим аналізом ВЕРХ. Після припинення реакції, фермент відфільтровували та промивали невеликою кількістю толуолу. Об'єднані органічні шари випаровували у вакуумі та потім аналізували за допомогою суперкритичної рідинної хроматографії. Результати наведені в Таблиці 17.

Таблиця 17

	Естер	Діол
--	-------	------

Запис	Аналог	Час (години)	Конверсія (%)	% ЕЕ	Конфігурація	% ЕЕ	Конфігурація
1	5-Бром	409	56,4 (8,9)	67,1	(R)	46,3	(S)
2	5-Карбоксамід	456	20,5 (5,0)	11,7	(R)	20,5	(S)
3	5-Иод	143	28,0 (1,9)	98,9	(R)	29,9	(S)
4	5-Хлор	244	30,5 (4,6)	54,7	(R)	24,3	(S)
5	5-Форміл	244	33,9 (8,3)	88,5	(R)	13,9	(S)

(Цифри в дужках відносяться до конверсії без ферменту)

#### Приклад 36

(S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрил

До перемішаного розчину рацемічного 4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (29ммоль, 10г) і вінілбутирату (58ммоль, 7,5мл) в безводному 1,4-діоксані (142,5мл) додавали ліпопротеїдліпазу *Pseudomonas* sp. (160 U, 250мг). Реакційну суміш нагрівали до 50°C з подальшим аналізом ВЕРХ. Через 192 години при конверсії 41% додатково додавали 250мг ліпази. Через 504 години при конверсії 63% реакцію припинили. Фермент відфільтрували та промивали невеликою кількістю 1,4-діоксану. Об'єднані органічні шари випаровували у вакуумі та потім аналізували за допомогою суперкритичної рідинної хроматографії. Одержана ЕЕ-величина (S)-діол = 95% (S-діол/R-діол = 40:1).

#### Приклад 37

Виділення (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу за допомогою флеш-хроматографії

Суміш 372мг діолу S-циталопраму з еє-величиною 94,5% і 628мг бутиратного естеру R-циталопрам діолу з еє-величиною 59,5% розчиняли в мінімальній суміші етилацетату/гептану 4:1 з 4% триетиламіну. Діол S-циталопраму виділяли з використанням флеш-хроматографії в суміші етилацетат/гептан 4:1 з 4% триетиламіну, одержуючи 120мг діолу S-циталопраму (еє-величина 94,5%).

#### Приклад 38

Виділення (S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу за допомогою промивання суміші, яка містить S-діольну основу

До суміші діолу S-циталопраму і бутиратного ефіру R-циталопрамного діолу (по 0,3г кожного) додавали 24мл гептану і 66мл суміші вода/метанол (2:1). Прозорий розчин переміщали в розділову ліжку та органічний шар збирали. До водної фази додавали додаткові 10мл гептану та все ретельно перемішували. Органічну фазу збирали. Екстрагування додатково повторювали 4 рази. Об'єднані гептанові фази екстрагували 20мл суміші вода/метанол (2:1) і водні фази об'єднували, випаровували до половини об'єму та екстрагували тричі 10мл етилацетату. Об'єднані етилацетатні фази сушили сульфатом натрію, фільтрували та сушили у вакуумі, одержуючи 0,15г діолу S-циталопраму, що містить 2% бутиратного естеру R-циталопрам діолу.

#### Приклад 39

Діольні аналоги S-циталопраму з використанням Novozymes 435

До перемішаного розчину рацемічного діольного аналога (S)-циталопраму (0,29ммоль, 100мг) і вінілбутирату (0,29ммоль, 37мкл) в безводному толуолі (2,925мл) додавали 0,2мг Novozym 435 і (0,32ммоль, 33мг) триметилоцтової кислоти. Реакційну суміш нагрівали до 40°C з подальшим аналізом ВЕРХ. Після припинення реакції фермент відфільтровували і промивали невеликою кількістю толуолу. Об'єднані органічні фази випаровували у вакуумі та потім аналізували за допомогою суперкритичної рідинної хроматографії. Результати наведені в Таблиці 18.

Таблиця 18

Запис	Аналог	Час (години)	Конверсія (%)	Естер		Діол	
				% ЕЕ	Конфігурація	% ЕЕ	Конфігурація
1	5-Бром	24	54	74,9	R	97,1	S
2	5-Карбоксамід	96	33	81,3	R	41,7	S
3	5-Иод	24	54	99,9	R	99,5	S
4	5-Хлор	24	51	74,9	R	96,3	S
5	5-Форміл	24	33	61,1	R	21,5	S

#### Приклад 40

Вплив різних карбонових кислот на ферментативне ацилювання з використанням Novozymes 435

До перемішаного розчину рацемічного 4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу (0,29ммоль, 100мг) і вінілбутирату (0,29ммоль, 37мкл) в безводному толуолі (2,925мл) додавали Novozymes 435 (0,2мг) і 1,1екв. карбонової кислоти. Реакційну суміш нагрівали до 40°C з подальшим аналізом ВЕРХ. Фермент відфільтровували та промивали невеликою кількістю толуолу. Об'єднані органічні шари випаровували у вакуумі та послідовно аналізували за допомогою суперкритичної рідинної хроматографії. Результати наведені в таблиці 19.

Таблиця 19

Запис	Карбонова кислота	Час (години)	Конверсія(%)	Естер		Діол	
				%ЕЕ	Конфігурація	% ЕЕ	Конфігурація
1	Оцтова кислота	24	18	92,1	R	65,7	S
2	Пропіонова кислота	24	34	89,7	R	94,7	S
3	Триметилоцтова кислота	24	55	88,3	R	85,5	S

4	Циклогексанкарбонова кислота	24	55	84,5	R	99,7	S
5	Бензойна кислота	72	50	92,3	R	86,7	S
6	Гідрокорична кислота	72	48	94,1	R	84,3	S
7	Ізовалеріанова кислота	48	51	88,3	R	90,7	S
8	Деканова кислота	72	53	82,9	R	86,9	S
9	Ізомасляна кислота	48	53	86,9	R	92,7	S
10	Кротонова кислота	72	54	82,9	R	95,1	S
11	2-Етилмасляна кислота	24	50	87,1	R	94,3	S
12	Пальмітинова кислота	48	54	71,3	R	93,3	S

#### Приклад 41

(R)-5-Ціано-2-[диметиламіно-(4'-фторфеніл)-гідроксибутил]бензилбутират

У чотиригорлову колбу, забезпечену мішалкою і термометром, завантажували 219г розчину, що містить 21,9г (0,064моль) ( $\pm$ )-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрилу в толуолі. Потім у вказану суміш додавали 14,6г (0,128ммоль) вінілбутирату, 5,07г (0,128моль) піридину, 7,89г (0,064моль) бензойної кислоти і 2,19г іммобілізованого ферменту (Novozym 435). Реакційній суміші давали можливість нагрітися до 60°C та потім її перемішували протягом 15 годин в слабкому струмені азоту, а потім перемішування припиняли. Фермент відфільтровували від реакційної суміші за допомогою лійки Kiriya та промивали 50г толуолу. Об'єднаний толуольний шар двічі промивали водою (255мл, 265мл) і концентрували, одержуючи (R)-5-ціано-2-[диметиламіно-(4'-фторфеніл)-гідроксибутил]бензилбутиратну сіль бензойної кислоти (14,9г).

До суміші 4,0г (R)-5-ціано-2-[диметиламіно-(4'-фторфеніл)-гідроксибутил]-бензилбутиратної солі бензойної кислоти (7,48ммоль), 40мл води і 40мл толуолу при перемішуванні додавали 1,26г 30% гідроксиду натрію (9,45ммоль) і суміш перемішували протягом 30 хвилин. Після перемішування суміш залишили відстоюватися, та толуольний шар відокремився. Толуольний шар промивали 40мл води і концентрували при 40°C при зниженому тиску, одержуючи таким чином 2,7г (R)-5-ціано-2-[диметиламіно-(4'-фторфеніл)-гідроксибутил]бензилбутирату.  $^1\text{H}$  ЯМР (400МГц,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  (ppm) (млн. $^{-1}$ ): 7,69 (1H, c), 7,68-7,56 (2H, m), 7,36-7,23 (2H, m), 7,02-6,90 (2H, m), 5,41 (1H, d, J=14,9Гц), 4,99 (1H, d, J=14,6Гц), 2,59-2,42 (1H, m), 2,40-2,30 (3H, m), 2,26 (2H, dt, J=7,3Гц, 1,5Гц), 2,18 (6H, c), 1,68-1,57 (2H, m), 1,67-1,46 (2H, m), 0,93 (3H, t, J=7,6Гц).

#### Приклад 42

Оксалат S-циталопраму

(S)-4-[4-диметиламіно-1-(4'-фторфеніл)-1-гідроксибутил]-3-гідроксиметилбензонітрил (15,8г, 46,2ммоль), що має хімічну чистоту 99% і еє-величину 98,7%, визначені за допомогою хіральної суперкритичної рідинної хроматографії, розчинили в толуолі (100мл). Потім додавали триетиламін (13,0мл, 93,2ммоль) з подальшим поступовим додаванням розчину толілсульфонілхлориду (9,4г, 49,4ммоль) в толуолі (100мл). Одержаний розчин перемішували при кімнатній температурі протягом 20 хвилин; потім додавали воду (50мл) і конц. аміак (25мл). Суміш перемішували при 45°C протягом 2 хвилин і переносили до розділової лійки. Фази відділяли і органічну фазу промивали водою (50мл), сушили сульфатом магнію, фільтрували і концентрували при зниженому тиску, одержуючи сирий неочищений продукт (14,2г) з 95% виходом. Сирий продукт розчиняли в етанолі (17мл), потім додавали розчин щавлевої кислоти (3,95г, 43,9ммоль) в етанолі (27мл). Осад збирали за допомогою фільтрування, одержуючи оксалат S-циталопраму (14,0г), який перекристалізовували з етанолу (85мл), одержуючи кінцевий продукт (12,2г). Чистота, визначена за допомогою ВЕРХ, складала 99,65%. Еє-величина, визначена за допомогою хіральної суперкритичної рідинної хроматографії складала 98,5%.