



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 361 065**

51 Int. Cl.:
C12P 13/02 (2006.01)
C12P 41/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Número de solicitud europea: **07803441 .0**
96 Fecha de presentación : **12.09.2007**
97 Número de publicación de la solicitud: **2069517**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **17.06.2009**

54 Título: **Método para la preparación de 2-benciloxiciclohexilamina ópticamente activa.**

30 Prioridad: **13.09.2006 EP 06120597**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
13.06.2011

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
13.06.2011

73 Titular/es: **BASF SE**
67056 Ludwigshafen, DE

72 Inventor/es: **Ditrich, Klaus;**
Reuther, Ute y
Bartsch, Michael

74 Agente: **Carvajal y Urquijo, Isabel**

ES 2 361 065 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

5 Método para la preparación de 2-benciloxiciclohexilamina ópticamente activa

La presente invención se refiere a un método para la preparación de trans-estereoisómeros ópticamente activos de 2-benciloxiciclohexilamina.

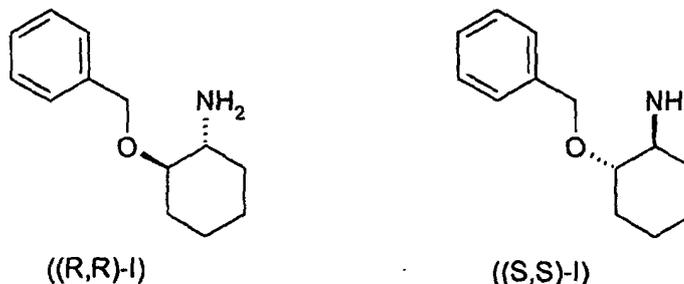
10 Los compuestos ópticamente activos poseen un significado inmenso ante todo en el campo de la industria farmacéutica, ya que con frecuencia sólo un isómero ópticamente activo es activo terapéuticamente. De esta manera existe una demanda que crece permanentemente de los compuestos ópticamente activos en calidad de sustancias reactantes para la síntesis enantioselectiva de principios activos. Uno de estos bloques de construcción claves para la síntesis de nuevos principios activos es la trans-2-benciloxiciclohexilamina ópticamente activa.

15 La WO 96/23894 describe en general un método para la separación de racematos de aminas primarias y secundarias, sustituidas por heteroátomos, mediante reacción con un éster en presencia de una hidrolasa y mediante separación, a continuación, del enantiómero acilado enantioselectivamente de la amina sustituida con heteroátomo del enantiómero no convertido. Sin embargo, las unidades enantioméricas de los productos no son aún satisfactorias.

20 Fue objeto de la presente invención suministrar un proceso eficiente para la preparación de 2-benciloxiciclohexilamina trans-estereoisomérica en esencia enantioméricamente pura. En especial, el proceso debe permitir la preparación de (R,R)-2-benciloxiciclohexilamina enantioméricamente pura en esencia, ante todo en una pureza enantiomérica de al menos 99 % ee, preferentemente de al menos 99,5 % ee y en especial de al menos 99,9 % ee.

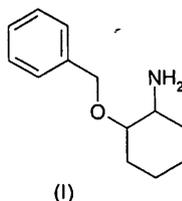
25 De manera sorprendente se encontró que se obtiene 2-benciloxiciclohexilamina ópticamente activa si una mezcla de enantiómeros, en especial el racemato de estas aminas se N-acila de manera enantioselectiva en presencia de una hidrolasa.

30 Además se encontró que los trans-enantiómeros respectivos se obtienen en forma altamente pura si se obtienen mediante adición de un ácido (por ejemplo, ácido carboxílico, ácido mineral) en forma de sus sales de adición ácidas. Es objeto de la invención un proceso para la preparación de compuestos ópticamente activos de las fórmulas ((R,R)-I) y/o ((S,S)-I),



el cual comprende los siguientes pasos:

(a) Reacción de una mezcla enantiomérica del trans-estereoisómero del compuesto de la fórmula (I)



40 con un agente de acilación en presencia de una hidrolasa, en cuyo caso se obtiene una mezcla en la que un enantiómero del trans-estereoisómero del compuesto (I) se encuentra presente esencialmente en la forma acilada y el otro enantiómero del trans-estereoisómero del compuesto (I) está presente esencialmente en forma no acilada;

45 (b) Separación del enantiómero no acilado del trans-isómero del compuesto (I) de la mezcla obtenida en el paso (a);

(c) Hidrólisis del enantiómero esencialmente acilado, obtenido en el paso (b), del trans-estereoisómero del compuesto (I) para producir el enantiómero correspondiente no acilado de la amina (I);

5 (d) Conversión de los compuestos ópticamente activos obtenidos en el paso (b) o (c) de las fórmulas ((R,R)-I) o ((S,S)-I) en sus sales de amonio mediante adición de un formador ácido de sal, en cuyo caso el formador ácido de sal se adiciona en forma de una solución acuosa y en cuyo caso después de la adición de la solución acuosa, el agua se retira de la solución de reacción al menos parcialmente;

(e) Aislamiento de las sales de amonio; y

10 (f) Liberación de las bases libres de las fórmulas ((R,R)-I) o ((S,S)-I) de las sales de amonio.

Las características y formas de realización preferidas, descritas a continuación, del proceso de la invención son válidas cada una de manera independiente o en especial en combinación entre sí.

15 En el contexto de la presente invención, los descriptores "trans" y "cis" describen la disposición de ambos sustituyentes en el anillo de ciclohexilo en su relación uno con respecto al otro. La expresión trans-estereoisómero comprende de esta manera (R,R)-2-benciloxiciclohexilamina y (S,S)-2-benciloxiciclohexilamina. La expresión cis-estereoisómero comprende el otro diastereómero que se compone de (R,S)-2-benciloxiciclohexilamina y (S,R)-2-benciloxiciclohexilamina.

20 La expresión "enantioselectiva" describe una reacción en la que los posibles productos de reacción, que son imágenes especulares unos de otros, se forman en partes desiguales. En el contexto de la presente invención esta expresión describe reacciones en las que el enantiómero deseado se forma preferiblemente con al menos 95 % ee, particularmente preferible con al menos 96 % ee, más fuertemente preferible con al menos 98 % ee, aún más fuertemente preferible con al menos 99 % ee, en particular con al menos 99,5 % ee y especialmente con al menos 99,9 % ee.

30 En el contexto de la presente invención la expresión "enantioméricamente pura en esencia" describe de esta manera una pureza de enantiómeros en cada caso de al menos 95 % ee, preferentemente de al menos 96 % ee, más fuertemente preferible de al menos 98 % ee, aún más fuertemente preferible de al menos 99 % ee, en particular de al menos 99,5 % ee y especialmente de al menos 99,9 % ee.

35 La unidad "% ee" se refiere al exceso de enantiómeros y de esta manera es una medida de la pureza enantiomérica que también se denomina pureza óptica. Esta se calcula de la diferencia de las porciones molares de ambos enantiómeros en una mezcla enantiomérica. A manera de ejemplo, 95 % ee significa que la porción del enantiómero principal en la mezcla enantiomérica es de 97,5 % y la porción del compuesto que es imagen especular del principal es de 2,5 %.

40 En la acilación enantioselectiva del trans-estereoisómero del compuesto (I) se obtiene preferentemente una mezcla en la cual el (S,S)-enantiómero está presente esencialmente en forma no acilada y el (R,R)-enantiómero está esencialmente en forma acilada.

45 La expresión "enantiómero esencialmente no acilado" describe que al menos 95%, preferentemente al menos 97%, en particular al menos 98% de este enantiómero no están acilados. De manera análoga es válido para la expresión "enantiómero esencialmente acilado" que al menos 95%, preferentemente al menos 97%, particularmente preferible al menos 98%, de este enantiómero estén presentes en forma acilada.

50 De manera correspondiente, la expresión "(S,S)-enantiómero esencialmente no acilado del compuesto (I)" debe entenderse de tal manera que al menos 95%, preferentemente al menos 97%, en particular al menos 98% del (S,S)-enantiómero del compuesto (I) no están acilados. De manera análoga es válido para la expresión "(R,R)-enantiómero del compuesto (I) esencialmente acilado", que al menos 95%, preferentemente al menos 97%, particularmente preferible al menos 98%, del (R,R)-enantiómero del compuesto (I) está presente en forma acilada.

55 Las hidrolasas empleadas en el proceso de la invención son preferentemente una proteasa y en particular una lipasa. Esta produce una N-acilación (amidación) selectiva de solo uno de los dos enantiómeros respectivos del trans-estereoisómero. De manera particularmente preferible produce la amidación selectiva del (R,R)-enantiómero del compuesto (I).

60 La hidrolasa se obtiene preferentemente de un microorganismo, particularmente preferible de una bacteria o de una levadura. Así mismo son adecuadas hidrolasas que pueden obtenerse mediante métodos recombinantes. La hidrolasa puede usarse en forma purificada o parcialmente purificada o en forma del microorganismo mismo. Para el experto en la materia son suficientemente conocidos métodos para la extracción y purificación de hidrolasas a partir

de microorganismos, por ejemplo de EP-A-1149849 o EP-A-1069183. De manera preferente la hidrolasa se emplea en forma purificada.

5 La hidrolasa puede emplearse libre (es decir en forma nativa) o inmovilizada. Por enzima inmovilizada se entiende una enzima que se fija en un soporte inerte. Se conocen materiales soporte adecuados así como las enzimas inmovilizadas sobre éstos a partir de las EP-A-1149849, EP-A-1 069183 y la DE-OS 10019377, así como de la bibliografía allí citada. Los materiales soporte adecuados incluyen arcillas, minerales arcillosos como caolinita, tierras diatomáceas, perlita, dióxido de silicio, óxido de aluminio, carbonato de sodio, carbonato de calcio, polvo de celulosa, materiales de intercambio iónico, polímeros sintéticos como poliestireno, resinas acrílicas, resinas de fenolformaldehído, poliuretanos y poliolefinas tales como polietileno y polipropileno. Para la preparación de las enzimas soportadas los materiales soporte se emplean usualmente en una forma de partículas finamente divididas, en cuyo caso se prefieren las formas porosas. El tamaño de partículas del material soporte es usualmente no mayor de 5 mm, en particular no mayor de 2 mm (curva granulométrica).

15 Se prefiere emplear lipasas (triacilglicerolacilhidrolasas; EC 3.1.1.3). Entre estas se prefieren lipasas que se extraen de bacterias de los géneros *Burkholderia* o *Pseudomonas* o de las levaduras del género *Candida*.

Ejemplos de especies *Burkholderia* son *Burkholderia ambifaria* (por ejemplo, cepas ATCC BAA-244, CCUG 44356, LMG 19182); *Burkholderia andropogonis* (por ejemplo, cepas ATCC 23061, CCUG 32772, CFBP 2421, CIP 105771, DSM 9511, ICMP 2807, JCM 10487, LMG 2129, NCPPB 934, NRRL B-14296); *Burkholderia caledonica* (por ejemplo, cepas W50D, CCUG 42236, CIP 107098, LMG 19076); *Burkholderia caribensis* (por ejemplo, cepas MWAP 64, CCUG 42847, CIP 106784, DSM 13236, LMG 18531); *Burkholderia caryophylli* (por ejemplo, cepas ATCC 25418, CCUG 20834, CFBP 2429, CFBP 3818, CIP 105770, DSM 50341, HAMB I 2159, ICMP 512, JCM 9310, JCM 10488, LMG 2155, NCPPB 2151); *Burkholderia cepacia* (por ejemplo, cepas Ballard 717, 717-ICPB 25, ATCC 25416, CCUG 12691, CCUG 13226, CFBP 2227, CIP 80.24, DSM 7288, HAMB I 1976, ICMP 5796, IFO 14074, JCM 5964, LMG 1222, NCCB 76047, NCPPB 2993, NCTC 10743, NRRL B-14810); *Burkholderia cocovenenans* (por ejemplo, cepas ATCC 33664, CFBP 4790, DSM 11318, JCM 10561, LMG 11626, NCIMB 9450); *Burkholderia fungorum* (por ejemplo, cepas Croize P763-2, CCUG 31961, CIP 107096, LMG 16225); *Burkholderia gladioli* (por ejemplo, cepas ATCC 10248, CCUG 1782, CFBP 2427, CIP 105410, DSM 4285, HAMB I 2157, ICMP 3950, IFO 13700, JCM 9311, LMG 2216, NCCB 38018, NCPPB 1891, NCTC 12378, NRRL B-793); *Burkholderia glathei* (por ejemplo, cepas ATCC 29195, CFBP 4791, CIP 105421, DSM 50014, JCM 10563, LMG 14190); *Burkholderia glumae* (por ejemplo, cepas ATCC 33617, CCUG 20835, CFBP 4900, CFBP 2430, CIP 106418, DSM 9512, ICMP 3655, LMG 2196, NCPPB 2981, NIAES 1169); *Burkholderia graminis* (por ejemplo, cepas C4D1 M, ATCC 700544, CCUG 42231, CIP 106649, LMG 18924); *Burkholderia kururiensis* (por ejemplo, cepas KP 23, ATCC 700977, CIP 106643, DSM 13646, JCM 10599, LMG 19447); *Burkholderia mallei* (por ejemplo, cepas ATCC 23344, NCTC 12938); *Burkholderia multivorans* (por ejemplo, cepas ATCC BAA-247, CCUG 34080, CIP 105495, DSM 13243, LMG 13010, NCTC 13007); *Burkholderia norimbergensis* (por ejemplo, cepas R2, ATCC BAA-65, CCUG 39188, CFBP 4792, DSM 11628, CIP 105463, JCM 10565, LMG 18379); *Burkholderia phenazinium* (por ejemplo, cepas ATCC 33666, CCUG 20836, CFBP 4793, CIP 106502, DSM 10684, JCM 10564, LMG 2247, NCIB 11027); *Burkholderia pikettii* (por ejemplo, cepas ATCC 27511, CCUG 3318, CFBP 2459, CIP 73.23, DSM 6297, HAMB I 2158, JCM 5969, LMG 5942, NCTC 11149); *Burkholderia plantarü* (por ejemplo, cepas AZ 8201, ATCC 43733, CCUG 23368, CFBP 3573, CFBP 3997, CIP 105769, DSM 9509, ICMP 9424 JCM 5492, LMG 9035, NCPPB 3590, NIAES 1723); *Burkholderia pseudomallei* (por ejemplo, cepas WRAIR 286, ATCC 23343, NCTC 12939); *Burkholderia pyrrocinia* (por ejemplo, cepas ATCC 15958, CFBP 4794, CIP 105874, DSM 10685, LMG 14191); *Burkholderia sacchari* (por ejemplo, cepas CCT 6771, CIP 107211, IPT 101, LMG 19450); *Burkholderia solanacearum* (por ejemplo, cepas A. Kelman 60-1, ATCC 11696, CCUG 14272, CFBP 2047, CIP 104762, DSM 9544, ICMP 5712, JCM 10489, LMG 2299, NCAIM B.01459, NCPPB 325, NRRL B-3212); *Burkholderia stabilis* (por ejemplo, cepas ATCC BAA-67, CCUG 34168, CIP 106845, LMG 14294, NCTC 13011); *Burkholderia thailandensis* (por ejemplo, cepas E 264, ATCC 700388, CIP 106301, DSM 13276); *Burkholderia ubonensis* (por ejemplo, cepas EY 3383, CIP 107078, NCTC 13147); *Burkholderia vandii* (por ejemplo, cepas VA-1316, ATCC 51545, CFBP 4795, DSM 9510, JCM 7957, LMG 16020); *Burkholderia vietnamiensis* (por ejemplo, cepas TVV 75, ATCC BAA-248, CCUG 34169, CFBP 4796, CIP 105875, DSM 11319, JCM 10562, LMG 10929).

Ejemplos de especies de *Pseudomonas* son *Pseudomonas aeruginosa* (por ejemplo, cepas ATCC 10145, DSM 50071), *Pseudomonas agarici* (por ejemplo, cepas ATCC 25941, DSM 11810), *Pseudomonas alcaligenes* (por ejemplo, cepas ATCC 14909, DSM 50342), *Pseudomonas amygdali* (por ejemplo, cepas ATCC 337614, DSM 7298), *Pseudomonas anguilliseptica* (por ejemplo, cepas ATCC 33660, DSM 12111), *Pseudomonas antimicrobica* (por ejemplo, cepas DSM 8361, NCIB 9898, LMG 18920), *Pseudomonas aspleni* (por ejemplo, cepas ATCC 23835, CCUG 32773), *Pseudomonas aurantiaca* (por ejemplo, cepas ATCC 33663, CIP 106710), *Pseudomonas aureofaciens* (por ejemplo, cepas ATCC 13985, CFBP 2133), *Pseudomonas avellanae* (por ejemplo, cepas DSM 11809, NCPPB 3487), *Pseudomonas azotoformans* (por ejemplo, cepas CIP 106744, JCM 7733), *Pseudomonas balearica* (por ejemplo, cepas DSM 6083, CIP 105297), *Pseudomonas beijerinckii* (por ejemplo, cepas ATCC 19372, DSM 6083), *Pseudomonas beteli* (por ejemplo, cepas ATCC 19861, CFBP 4337), *Pseudomonas boreopolis*

(por ejemplo, cepas ATCC 33662, CIP 106717), *Pseudomonas carboxydrogena* (por ejemplo, cepas ATCC 29978, DSM 1083), *Pseudomonas caricapapayae* (por ejemplo, cepas ATCC 33615, CCUG 32775), *Pseudomonas cichorii* (por ejemplo, cepas ATCC 10857, DSM 50259), *Pseudomonas cissicola* (por ejemplo, cepas ATCC 33616, CCUG 18839), *Pseudomonas citronellolis* (por ejemplo, cepas ATCC 13674, DSM 50332), *Pseudomonas coronafaciens* (por ejemplo, cepas DSM 50261, DSM 50262), *Pseudomonas corrugata* (por ejemplo, cepas ATCC 29736, DSM 7228), *Pseudomonas doudoroffii* (por ejemplo, cepas ATCC 27123, DSM 7028), *Pseudomonas echinoides* (por ejemplo, cepas ATCC 14820, DSM 1805), *Pseudomonas elongata* (por ejemplo, cepas ATCC 10144, DSM 6810), *Pseudomonas ficuserectae* (por ejemplo, cepas ATCC 35104, CCUG 32779), *Pseudomonas flavescens* (por ejemplo, cepas ATCC 51555, DSM 12071), *Pseudomonas flectens* (por ejemplo, cepas ATCC 12775, CFBB 3281), *Pseudomonas fluorescens* (por ejemplo, cepas ATCC 13525, DSM 50090), *Pseudomonas fragi* (por ejemplo, cepas ATCC 4973, DSM 3456), *Pseudomonas fulva* (por ejemplo, cepas ATCC 31418, CIP 106765), *Pseudomonas fuscovaginae* (por ejemplo, cepas CCUG 32780, DSM 7231), *Pseudomonas gelidicola* (por ejemplo, cepas CIP 106748), *Pseudomonas geniculata* (por ejemplo, cepas ATCC 19374, LMG 2195), *Pseudomonas glathei* (por ejemplo, cepas ATCC 29195, DSM 50014), *Pseudomonas halophila* (por ejemplo, cepas ATCC 49241, DSM 3050), *Pseudomonas hibiscicola* (por ejemplo, cepas ATCC 19867, LMG 980), *Pseudomonas huttiensis* (por ejemplo, cepas ATCC 14670, DSM 10281), *Pseudomonas iners* (por ejemplo Stamm CIP 106746), *Pseudomonas lanceolata* (por ejemplo, cepas ATCC 14669, CFBP 5587), *Pseudomonas lemoignei* (por ejemplo, cepas ATCC 17989, DSM 7445), *Pseudomonas lundensis* (por ejemplo, cepas ATCC 19968, DSM 6252), *Pseudomonas luteola* (por ejemplo, cepas ATCC 43273, DSM 6975), *Pseudomonas marginalis* (por ejemplo, cepas ATCC 10844, DSM 13124), *Pseudomonas meliae* (por ejemplo, cepas ATCC 33050, DSM 6759), *Pseudomonas mendocina* (por ejemplo, cepas ATCC 25411, DSM 50017), *Pseudomonas mucidolens* (por ejemplo, cepas ATCC 4685, CCUG 1424), *Pseudomonas monteilli* (por ejemplo, cepas ATCC 700476, DSM 14164), *Pseudomonas nautica* (por ejemplo, cepas ATCC 27132, DSM 50418), *Pseudomonas nitroreducens* (por ejemplo, cepas ATCC 33634, DSM 14399), *Pseudomonas oleovorans* (por ejemplo, cepas ATCC 8062, DSM 1045), *Pseudomonas oryzihabitans* (por ejemplo, cepas ATCC 43272, DSM 6835), *Pseudomonas pertucinogena* (por ejemplo, cepas ATCC 190, CCUG 7832), *Pseudomonas phenazinium* (por ejemplo, cepas ATCC 33666, DSM 10684), *Pseudomonas pictorum* (por ejemplo, cepas ATCC 23328, LMG 981), *Pseudomonas pseudoalcaligenes* (por ejemplo, cepas ATCC 17440, DSM 50188), *Pseudomonas putida* (por ejemplo, cepas ATCC 12633, DSM 291), *Pseudomonas pyrrocinia* (por ejemplo, cepas ATCC 15958, DSM 10685), *Pseudomonas resinovorans* (por ejemplo, cepas ATCC 14235, CCUG 2473), *Pseudomonas rhodesiae* (por ejemplo, cepas CCUG 38732, DSM 14020), *Pseudomonas saccharophila* (por ejemplo, cepas ATCC 15946, DSM 654), *Pseudomonas savastanoi* (por ejemplo, cepas ATCC 13522, CFBP 1670), *Pseudomonas spinosa* (por ejemplo, cepas ATCC 14606), *Pseudomonas stanieri* (por ejemplo, cepas ATCC 27130, DSM 7027), *Pseudomonas straminae* (por ejemplo, cepas ATCC 33636, CIP 106745), *Pseudomonas stutzeri* (por ejemplo, cepas ATCC 17588, DSM 5190), *Pseudomonas synxantha* (por ejemplo, cepas ATCC 9890, CFBP 5591), *Pseudomonas syringae* (por ejemplo, cepas ATCC 19310, DSM 6693), *Pseudomonas syzygii* (por ejemplo, cepas ATCC 49543, DSM 7385), *Pseudomonas taetrolens* (por ejemplo, cepas ATCC 4683, CFBP 5592), *Pseudomonas tolaasii* (por ejemplo, cepas ATCC 33618, CCUG 32782), *Pseudomonas veronii* (por ejemplo, cepas ATCC 700272, DSM 11331), *Pseudomonas viridiflava* (por ejemplo, cepas ATCC 13223, DSM 11124), *Pseudomonas vulgaris*, *Pseudomonas wisconsinensis* y *Pseudomonas spec.* DSM 8246. De estas se prefieren lipasas de *Burkholderia glumae*, *Burkholderia plantarii*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas fragi*, *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas vulgaris*, *Pseudomonas wisconsinensis* y *Pseudomonas spec.* DSM 8246. Particularmente se prefieren lipasas de *Pseudomonas spec.* DSM 8246.

Ejemplos de especies *Candida* son *Candida albomarginata* (por ejemplo, la cepa DSM 70015), *Candida antarctica* (por ejemplo, la cepa DSM 70725), *Candida bacarum* (por ejemplo, la cepa DSM 70854), *Candida bogoriensis* (por ejemplo, la cepa DSM 70872), *Candida boidinii* (por ejemplo, cepas DSM 70026, 70024, 70033, 70034), *Candida bovina* (por ejemplo, la cepa DSM 70156), *Candida brumptii* (por ejemplo, la cepa DSM 70040), *Candida cacaoui* (por ejemplo, la cepa DSM 2226), *Candida cariosilignicola* (por ejemplo, la cepa DSM 2148), *Candida chalmersii* (por ejemplo, la cepa DSM 70126), *Candida ciferii* (por ejemplo, la cepa DSM 70749), *Candida cilindracea* (por ejemplo, la cepa DSM 2031), *Candida ernobii* (por ejemplo, la cepa DSM 70858), *Candida famata* (por ejemplo, la cepa DSM 70590), *Candida freyschussii* (por ejemplo, la cepa DSM 70047), *Candida friederichii* (por ejemplo, la cepa DSM 70050), *Candida glabrata* (por ejemplo, cepas DSM 6425, 11226, 70614, 70615), *Candida guilliermondi* (por ejemplo, cepas DSM 11947, 70051, 70052), *Candida haemulonii* (por ejemplo, la cepa DSM 70624), *Candida inconspicua* (por ejemplo, la cepa DSM 70631), *Candida ingens* (por ejemplo, cepas DSM 70068, 70069), *Candida intermedia* (por ejemplo, la cepa DSM 70753), *Candida kefir* (por ejemplo, cepas DSM 70073, 70106), *Candida krusei* (por ejemplo, cepas DSM 6128, 11956, 70075, 70079, 70086), *Candida lactiscondensii* (por ejemplo, la cepa DSM 70635), *Candida lambica* (por ejemplo, cepas DSM 70090, 70095), *Candida lipolytica* (por ejemplo, cepas DSM 1345, 3286, 8218, 70561 o 70562), *Candida lusitanae* (por ejemplo, la cepa DSM 70102), *Candida macedoniensis* (por ejemplo, la cepa DSM 70106), *Candida magnoliae* (por ejemplo, cepas DSM 70638, 70639), *Candida membranaefaciens* (por ejemplo, la cepa DSM 70109), *Candida multigemnis* (por ejemplo, la cepa DSM 70862), *Candida mycoderma* (por ejemplo, la cepa DSM 70184), *Candida nemodendra* (por ejemplo, la cepa DSM 70647), *Candida nitratophila* (por ejemplo, la cepa DSM 70649), *Candida norvegica* (por ejemplo, la cepa DSM 70862), *Candida parapsilosis* (por ejemplo, cepas DSM 5784,4237, 11224, 70125, 70126), *Candida pelliculosa* (por ejemplo,

la cepa DSM 70130), *Candida pini* (por ejemplo, la cepa DSM 70653), *Candida pulcherrima* (por ejemplo, la cepa DSM 70336), *Candida punicea* (por ejemplo, la cepa DSM 4657), *Candida pustula* (por ejemplo, la cepa DSM 70865), *Candida rugosa* (por ejemplo, la cepa DSM 70761), *Candida sake* (por ejemplo, la cepa DSM 70763), *Candida silvicola* (por ejemplo, la cepa DSM 70764), *Candida solani* (por ejemplo, la cepa DSM 3315), *Candida sp.* (por ejemplo, la cepa DSM 1247), *Candida spandovensis* (por ejemplo, la cepa DSM 70866), *Candida succiphila* (por ejemplo, la cepa DSM 2149), *Candida utilis* (por ejemplo, cepas DSM 2361, 70163 o 70167), *Candida valida* (por ejemplo, cepas DSM 70169, 70178, 70179), *Candida versatilis* (por ejemplo, la cepa DSM 6956), *Candida vini* (por ejemplo, la cepa DSM 70184) y *Candida zeylanoides* (por ejemplo, la cepa DSM 70185).

En el método de la invención se prefiere emplear particularmente lipasas de levaduras del género *Candida*, en particular de *Candida antarctica*. Por consiguiente, en una forma especial de realización del método de la invención se usa lipasa B de *Candida antarctica*. Se prefiere la forma inmovilizada de esta lipasa, por ejemplo la lipasa B de *Candida antarctica* inmovilizada sobre resina acrílica, la cual puede obtenerse comercialmente, por ejemplo bajo la denominación "Novozyme 435®".

La cantidad de hidrolasa a emplear en la acilación enantioselectiva del proceso de la invención depende de su especie y de la actividad de la preparación de enzima. La cantidad de enzima, óptima para la reacción, puede determinarse fácilmente mediante ensayos previos. Regularmente se emplean cerca de 1000 unidades de hidrolasa por mmol de la mezcla enantiomérica a separarse.

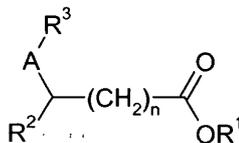
La unidad "units" describe la actividad de la hidrolasa y se refiere a la cantidad de un compuesto de referencia convertida por la hidrolasa en condiciones estándar definidas.

Los agentes de acilación empleados en el proceso de la invención se seleccionan preferentemente entre aquellos en los que el componente ácido lleva un heteroátomo rico en electrones, el cual se selecciona de los átomos de flúor, nitrógeno, oxígeno y azufre, en la vecindad del átomo carbono del carbonilo. El agente de acilación es preferentemente un éster. Particularmente se prefiere seleccionar el agente de acilación entre ésteres, cuyo componente ácido tiene, en posición α , β o γ respecto del átomo de carbono del carbonilo, un grupo que contiene oxígeno, nitrógeno, flúor o azufre. Particularmente se prefieren aquellos agentes de acilación en los que el heteroátomo mismo está enlazado en posición α , β o γ , y en particular en posición α respecto del átomo de carbono en carbonilo.

El grupo que contiene oxígeno es, por ejemplo, un grupo hidroxilo o un grupo alcoxilo. El grupo que contiene nitrógeno se trata de grupos amino mientras que el grupo que contiene azufre puede tratarse del grupo tiol (SH) o de grupos alquiltio.

El componente alcohol del éster se deriva preferentemente de alcoholes de C₁-C₁₀, lineales o ramificados, los cuales pueden estar sustituidos o, preferentemente, sin sustituir. Aunque, de manera particularmente preferible, el componente alcohol se deriva de alcoholes secundarios, como isopropanol, 2-butanol, 2- o 3-pentanol y similares. Especialmente se deriva de isopropanol.

Ésteres particularmente adecuados son aquellos de la fórmula (III)



(III)

donde

- 45 R¹ representa alquilo de C₁-C₁₀,
 R² representa hidrógeno o alquilo de C₁-C₁₀,
 R³ representa hidrógeno, alquilo de C₁-C₁₀ o fenilo, que está opcionalmente sustituido por NH₂, OH, alcoxi de C₁-C₄ o halógeno,
 A representa O, S o NR⁴, preferiblemente representa O,
 50 R⁴ representa hidrógeno, alquilo de C₁-C₁₀ o fenilo, el cual está opcionalmente sustituido por NH₂, OH, alcoxi de C₁-C₄ o halógeno, y
 n representa 0, 1 o 2.

Preferiblemente R^1 representa alquilo de C_1-C_4 , lineal o ramificado. En particular, R^1 se deriva de alcoholes secundarios y de manera correspondiente representa de manera particularmente preferible un grupo alquilo de C_3-C_4 enlazado por un átomo de carbono terciario, como isopropilo o 2-butilo. R^1 representa especialmente isopropilo.

5 Preferiblemente, R^2 representa hidrógeno o alquilo de C_1-C_4 y particularmente hidrógeno.

Preferiblemente R^3 representa alquilo de C_1-C_4 , particularmente preferible representa metilo o etilo y especialmente representa metilo.

10 Preferiblemente A representa O.

En el contexto de la presente invención, la expresión "alquilo de C_1-C_4 " describe un residuo de alquilo, lineal o ramificado, con 1 a 4 átomos de carbono, como metilo, etilo, propilo, isopropilo, n-butilo, sec-butilo, isobutilo o terc-butilo.

15 La expresión "alquilo de C_1-C_4 " representa un residuo de alquilo, lineal o ramificado, con 1 a 10 átomos de carbono. Ejemplos de éstos son, además de los residuos alquilo de C_1-C_4 nombrados previamente, pentilo, neopentilo, hexilo, heptilo, octilo, 2-etilhexilo, nonilo, neonilo, decilo y neodecilo.

20 La expresión "alcoxilo de C_1-C_4 " describe un residuo alquilo enlazado por oxígeno, con 1 a 4 átomos de carbono. Ejemplos de éstos son metoxi, etoxi, propoxi, isopropoxi, n-butoxi, sec-butoxi, isobutoxi y terc-butoxi.

25 La expresión "alcohol de C_1-C_{10} " representa un hidrocarburo alifático con 1 a 10 átomos de carbono que está sustituido por al menos un grupo hidroxilo. Alcohol de C_1-C_{10} representa preferentemente un alcano sustituido con un grupo hidroxilo. Ejemplos de éstos son metanol, etanol, propanol, isopropanol, butanol, sec-butanol, isobutanol, terc-butanol, pentanol, hexanol, heptanol, octanol, 2-etilhexanol, nonanol y decanol.

30 En el contexto de la presente invención, halógeno preferentemente representa flúor, cloro o bromo, particularmente preferible representa flúor o cloro.

35 En la acilación enantioselectiva del proceso de la invención se emplea preferentemente 1 a 3 equivalentes molares, particularmente preferible 1 a 2 equivalentes molares, más fuertemente preferible 1 a 1,5 equivalentes molares y, en particular, 1 a 1,2 equivalentes molares, respecto de la cantidad de enantiómero del compuesto de la fórmula (I) que se acila. La expresión "equivalente molar" se refiere aquí al número de grupos carboxilo del agente de acilación en moles, los cuales pueden reaccionar con un mol del enantiómero del compuesto (I) que se acila. De manera correspondiente, al usar un éster de la fórmula (III), se emplea preferentemente 1 a 3 moles, particularmente preferible 1 a 2 moles, más fuertemente preferible 1 a 1,5 moles y en particular 1 a 1,2 moles de ésteres por mol del enantiómero del compuesto de la fórmula (I) que se acila. De manera alternativa, al usar los ésteres de la fórmula (III), preferentemente se emplean 0,5 a 1,5 moles, particularmente preferible 0,5 a 1 mol, más fuertemente preferible 40 0,5 a 0,75 y en particular 0,5 a 0,6 mol de éster, respecto de 1 mol de la mezcla enantiomérica a separar, en particular si esta mezcla se trata de un racemato.

45 En una forma preferida de realización del método de la invención, la reacción en el paso (a) del proceso se efectúa en sustancia, es decir sin adición de solvente acuoso u orgánico.

50 En una forma de realización, preferida de manera alterna, la acilación en el proceso de la invención se realiza en un medio no acuoso de reacción. Por medios no acuosos de reacción deben entenderse los que contienen menos de 1 % en peso, preferentemente menos de 0,5 % en peso de agua, particularmente preferible menos de 0,1 % en peso de agua y en particular menos de 0,05 % en peso de agua respecto del peso total del medio de reacción. En esta forma de realización, la acilación se realiza preferentemente en un solvente orgánico. *einem organischen*. Solventes adecuados son, por ejemplo, hidrocarburos alifáticos y alicíclicos, preferentemente con 5 a 8 átomos de carbono, como pentano, ciclopentano, hexano, ciclohexano, heptano, octano o ciclooctano, hidrocarburos alifáticos halogenados, preferentemente con 1 o 2 átomos de carbono, como diclorometano, cloroformo, tetraclorometano, dicloroetano o tetracloroetano, hidrocarburos aromáticos como benceno, tolueno, los xilenos, clorobenceno o 55 diclorobenceno, éteres alifáticos, cíclicos y acíclicos, preferentemente con 4 a 8 átomos de carbono, como dietiléter, metil-terc-butiléter, etil-terc-butiléter, dipropiléter, diisopropiléter, dibutiléter, tetrahidrofurano o dioxano, o mezclas de los solventes previamente nombrados. Particularmente preferible se emplean los éteres y los hidrocarburos aromáticos previamente nombrados. En particular se usa tolueno.

60 La reacción de los compuestos de la fórmula (I) con el agente de acilación se efectúa regularmente a una temperatura de reacción por debajo de la temperatura de desactivación de la hidrolasa empleada y se encuentra preferentemente a al menos -10°C . De manera particularmente preferible se encuentra en el rango de 0 a 80°C , en particular de 10 a 40°C . La reacción se efectúa especialmente a temperatura ambiente.

Para la realización puede cargarse, por ejemplo, una mezcla enantiomérica de los trans-estereoisómeros de los compuestos de la fórmula (I) con la hidrolasa, el agente de acilación y, opcionalmente, el solvente y mezclar bien la mezcla, por ejemplo revolviendo o agitando. Pero también es posible inmovilizar la hidrolasa en un reactor, por ejemplo en una columna, y a través del reactor conducir una mezcla que contiene la mezcla enantiomérica y el agente de acilación. Para este propósito la mezcla puede conducirse en un circuito a través del reactor hasta que se logre la conversión deseada. En tal caso, los grupos carboxilo del agente de acilación se transfieren secuencialmente en amidas de aquel enantiómero del compuesto (I) que se acila, mientras que el otro enantiómero permanece esencialmente sin modificarse. Regularmente la acilación se conduce hasta una conversión de al menos 95%, preferible de al menos 98% y en particular de al menos 99 %, respecto del enantiómero, contenido en la mezcla, del compuesto (I) que se acila de manera enantioselectiva. El avance de la reacción, es decir la formación secuencial de amida, puede seguirse mediante métodos usuales como cromatografía de gases o HPLC (High Performance Liquid Chromatography).

El procesamiento de la mezcla de reacción puede efectuarse de manera usual, por ejemplo, separando opcionalmente la hidrolasa de la mezcla de reacción, por ejemplo filtrando o centrifugando, retirando el solvente del filtrado o centrifugado y sometiendo a continuación el residuo a una separación.

En una forma especial de realización del proceso de la invención la mezcla enantiomérica empleada es el racemato de la amina (I); sin embargo, también son adecuadas las mezclas en las que uno de los enantiómeros está enriquecido.

Mediante la reacción enantioselectiva de la mezcla enantiomérica de los trans- isómeros del compuesto (I) se genera un producto de reacción que contiene un enantiómero esencialmente acilado (es decir, amida) del compuesto (I) y el enantiómero opuesto esencialmente no acilado. Esta mezcla presente que consiste de amina y amida puede separarse fácilmente mediante métodos usuales. Son operaciones adecuadas de separación, por ejemplo, la extracción, destilación, cristalización o cromatografía. La separación de la amina y de la amida se efectúa preferentemente mediante destilación. En un método de separación preferido de manera alterna, se mezcla la mezcla de reacción disuelta o suspendida en un solvente orgánico con un formador ácido de sal, en cuyo caso se forma la sal de amonio del enantiómero acilado y se precipita. Este puede separarse luego mediante filtración o centrifugación del sobrenadante que contiene la amida del enantiómero opuesto del compuesto (I). Formadores ácidos de sal que son adecuados son, por ejemplo, ácidos de protones, en particular ácidos minerales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico o ácido nítrico, pero también ácidos orgánicos como ácido trifluoracético, ácido trifluormetansulfónico o ácido para-toluenosulfónico así como sus sales de metal alcalino, en cuyo caso se prefieren, no obstante, ante todo se prefieren ácidos, ante todo ácidos minerales y en particular ácido clorhídrico o ácido sulfúrico. El ácido se emplea preferentemente en cantidad aproximadamente equimolar con respecto de la cantidad de enantiómero no acilado, por ejemplo en una cantidad de 0,9 a 1,5 mol, preferentemente 1 a 1,2 moles y en particular cerca de 1 mol, respecto de 1 mol del enantiómero no acilado. En el caso de los ácidos polipróticos como ácido sulfúrico, las proporciones molares se refieren obviamente al número de los protones ácidos contenidos en el ácido.

El enantiómero separado, esencialmente no acilado del compuesto (I) puede someterse opcionalmente a purificación adicional usando métodos conocidos por el experto en la materia. En particular, el enantiómero no acilado, separado después de la acilación, es (S,S)-2-benciloxiciclohexilamina ((S,S)-I) [es decir que en el paso (b) del proceso se obtiene en particular (S,S)-2-benciloxiciclohexilamina ((S,S)-I)].

Si el enantiómero esencialmente no acilado del compuesto (I) obtenido gracias a los métodos de separación está presente en forma de sal de amonio, entonces la amina se libera de la sal de amonio por medio de una base adecuada. Bases adecuadas son, por ejemplo, hidróxidos de metal alcalino tales como hidróxido de sodio o hidróxido de potasio, hidróxidos de metal alcalino térreo como hidróxido de calcio o hidróxido de magnesio, carbonatos de metal alcalino o carbonatos de metal alcalino térreo, como carbonato de sodio, carbonato de potasio o carbonato de calcio. Preferiblemente se usan hidróxidos de metal alcalino, como hidróxido de sodio o hidróxido de potasio. La neutralización se efectúa preferentemente en un medio acuoso. Para el aislamiento más fácil de la amina, se emplea la base preferentemente en una cantidad tal que el compuesto liberado se presenta en forma neutral. La amina libre obtenida puede someterse a continuación, en caso de desearse, a más pasos de purificación.

El otro enantiómero que fue acilado de manera enantioselectiva en el proceso de la invención puede obtenerse hidrolizando el enantiómero esencialmente acilado del compuesto (I) y que se ha obtenido durante la acilación, es decir, la amida del compuesto (I), con la eliminación de la función acilo, en cuyo caso se obtiene el enantiómero correspondiente del compuesto (I). De manera preferente el producto obtenido es (R,R)-2-benciloxiciclohexilamina ((R,R)-I) [es decir que en el paso (c) del proceso se obtiene preferentemente (R,R)-2-benciloxiciclohexilamina ((R,R)-I)].

La hidrólisis regularmente se efectúa en tal caso en condiciones de reacción como las conocidas para la hidrólisis de amidas. Se describen condiciones de reacción, por ejemplo, en DE-A-19534208 o en Organikum, VEB Deutscher Verlag der Wissenschaften (Editorial de las ciencias), Berlín 1988, 17. Edición, página 419 o en Jerry March, Advanced Organic Chemistry, 3. Edición, John Wiley and Sons, página 338 y siguientes. La hidrólisis hasta amina se efectúa preferentemente mediante reacción con una base. Bases adecuadas son, por ejemplo, hidróxidos de metal alcalino, como hidróxido de sodio e hidróxido de potasio, hidróxidos de metal alcalino térreo como hidróxido de calcio, carbonatos de metal alcalino y de metal alcalino térreo, amoniaco, aminas como dimetilamina, trimetilamina, dietilamina, trietilamina, diisopropilamina y diisopropiletilamina, o aminoalcoholes, como etanolamina, dietanolamina y trietanolamina. De manera particularmente preferible se usan los hidróxidos de metal alcalino mencionados, opcionalmente en combinación con una amina o un aminoalcohol.

La hidrólisis puede realizarse en agua o en un solvente orgánico o en una mezcla de agua y solvente orgánico. Solventes orgánicos adecuados son alcoholes, preferentemente con 1 a 3 átomos de carbono, como metanol, etanol, propanol o isopropanol, glicoles, en particular con 2 a 8 átomos de carbono, como etilenglicol, di- y trietilenglicol, aminas y aminoalcoholes, por ejemplo las aminas y aminoalcoholes nombrados previamente, además las mezclas de los solventes previamente nombrados y sus mezclas con agua. La hidrólisis se efectúa preferentemente a temperatura elevada, por ejemplo a la temperatura de ebullición del solvente usado.

El producto de reacción puede purificarse mediante métodos usuales, por ejemplo mediante destilación, sublimación, extracción o cromatografía.

Si el enantiómero hidrolizado obtenido del compuesto (I) se presente en forma de la sal de amonio, por ejemplo porque el producto acilado se ha hidrolizado con ácidos, entonces la amina se libera de la sal de amonio por medio de una base adecuada, tal como se describió arriba para el enantiómero esencialmente no acilado. La amina libre obtenida también puede someterse a otros pasos de purificación conocidos para el experto en la materia.

De manera análoga que al usar el cis-estereoisómero, también pueden prepararse los (R,S)- y (S,R)-enantiómeros del compuesto (I).

En el proceso de la invención los compuestos ópticamente activos de las fórmulas ((R,R)-I) o ((S,S)-I), obtenidos en el paso (b) o (c), se transforman en sus sales de amonio mediante la adición de un formador de sal (paso (d)) para incrementar la pureza química y/u óptica, se aíslan como tales (paso (e)) y a continuación se liberan nuevamente como base libre (paso (f)). Estos pasos se ofrecen en particular en el caso de que la pureza óptica o química de los enantiómeros obtenidos en los pasos (b) y (c) aún no sea satisfactoria.

La formación de sal se efectúa ventajosamente precipitando la sal de adición de ácido de los compuestos ((R, R)-I) o ((S,S)-I). En referencia a la realización y en particular a la elección del formador ácido de sal se aplican las indicaciones hechas arriba para la separación por precipitación del enantiómero esencialmente no acilado (paso (b)). Para este propósito, el enantiómero a purificarse se introduce preferentemente en un solvente orgánico y el formador ácido de sal se adiciona a la solución. También es posible, por supuesto, adicionar el enantiómero al formador ácido de sal, opcionalmente en el solvente, aunque se prefiere la primera variante. El solvente se selecciona preferentemente de tal manera que la base libre, es decir la forma de amina del enantiómero (R,R)-I) o ((S,S)-I) a purificar sea soluble en él y que por lo contrario su sal de amonio sea esencialmente insoluble; es decir, que se disuelva a lo sumo 5 %, preferiblemente a lo sumo 2 % y en particular máximo 1 %. Solventes adecuados son, por ejemplo, hidrocarburos alifáticos y alicíclicos, preferentemente con 5 a 8 átomos de carbono, tales como pentano, ciclopentano, hexano, ciclohexano, heptano, octano o ciclooctano, hidrocarburos alifáticos halogenados, preferentemente con 1 o 2 átomos de carbono tales como diclorometano, cloroformo, tetraclorometano, dicloroetano o tetracloroetano, hidrocarburos aromáticos, como benceno, tolueno, los xilenos, clorobenceno o diclorobenceno, éteres alifáticos, acíclicos y cíclicos, preferentemente con 4 a 8 átomos de carbono, como dietil éter, metil-terc-butil éter, etil-terc-butil éter, dipropil éter, diisopropil éter, dibutil éter, tetrahidrofurano o dioxano, o mezclas de los solventes previamente nombrados. Particularmente se prefiere emplear los éteres e hidrocarburos aromáticos previamente mencionados. Especialmente se usa tolueno.

Al precipitar las sales de amonio del compuesto de la fórmula (I) particularmente se prefiere la adición del formador ácido de sales en forma de una solución acuosa. Preferiblemente se usan soluciones acuosas de ácidos minerales, como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido sulfúrico, ácido nítrico o ácido fosfórico. Como formador ácido de sal es particularmente adecuado el ácido clorhídrico. Esto es sorprendente porque a pesar de la presencia de agua tiene lugar una precipitación selectiva de la sal de amonio del enantiómero a purificar sin pérdidas esenciales de rendimiento.

En esta modalidad especial del proceso de la invención puede ser ventajoso retirar nuevamente total o parcialmente el agua adicionada con el formador ácido de sal mediante un método conocido por el experto en la materia. A manera de ejemplo para este propósito es adecuada la destilación azeotrópica, dependiendo del solvente.

La pureza y el rendimiento de la sal del compuesto de la fórmula (I) obtenida de la precipitación pueden influenciarse de manera dirigida dependiendo de las especificaciones a cumplir por el producto final mediante el contenido de agua de la mezcla de reacción.

5 El aislamiento de las sales de amonio formadas se efectúa mediante procesos generalmente usuales para la separación de sólidos precipitados, por ejemplo mediante filtración, sedimentación, centrifugación, etc. con o sin remoción previa de la fase líquida presente en la mezcla de reacción. Esta puede removerse, por ejemplo, mediante decantación o destilación. En caso de desearse, la sal de amonio separada puede someterse a otros pasos de purificación, como el lavado o la digestión con un solvente en el cual la sal no es soluble.

10 Los compuestos (I) en esencia enantioméricamente puros pueden liberarse nuevamente después de aislar el producto precipitado de sus sales de amonio mediante neutralización con una base. Las indicaciones hechas sobre el paso (b) sobre las bases adecuadas son válidas aquí de manera correspondiente. En particular, la neutralización se efectúa con una solución acuosa de Na OH.

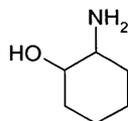
15 Mediante esta forma de realización puede seguir incrementándose la pureza óptica y química de los compuestos (I) en esencia enantioméricamente puros (en particular (R,R)-I y (S,S)-I). De esta manera puede incrementarse la pureza química y/u óptica de los compuestos ópticamente activos de la fórmula (I) que, en el marco de la presente invención y debido a su demasiada baja pureza, no se denominan compuestos (I) enantioméricamente puros.

20 Mediante esta forma de realización pueden lograrse purezas químicas u ópticas de los enantiómeros de 2-benciloxiciclohexilamina de al menos 99 % o al menos 99 % ee, preferible de al menos 99,5 % o de al menos 99,5 % ee y en particular de al menos 99,9 % o de al menos 99,9 % ee.

25 Los rendimientos alcanzables en la precipitación de los compuestos (I) en forma de sus sales de amonio mediante la adición de un formador ácido de sal para incrementar la pureza química y/u óptica dependen de la pureza química y óptica de los compuestos de partida así como de las purezas deseadas del producto obtenido de éstos. La pérdida de rendimiento se encuentra preferiblemente en menos de 15 % y en particular en menos de 10 %, respecto de la cantidad total del enantiómero a aislar.

En otra forma preferida de realización del proceso de la invención el trans-estereoisómero del compuesto de la fórmula (I) se obtiene:

35 (i) haciendo reaccionar óxido de ciclohexeno (epoxiciclohexano) con amoniaco para obtener el compuesto de la fórmula (II);



(II)

y

40 (ii) haciendo reaccionar el trans-estereoisómero del compuesto de la fórmula (II) con un compuesto adecuado de bencilo para producir el trans-estereoisómero del compuesto de la fórmula (I) o

45 (iii) haciendo reaccionar una mezcla de cis- y trans-isómero del compuesto de la fórmula (II) con un compuesto adecuado de bencilo para producir una mezcla de los correspondientes cis- y trans-benciléteres (es decir, una mezcla de los trans- y los cis-isómeros del compuesto I) y aislando de ésta el trans-estereoisómero del compuesto de la fórmula (I).

50 La preparación de aminociclohexanol a partir de óxido de ciclohexeno, denominada paso (I) en el contexto de la presente invención, puede realizarse, por ejemplo, según las instrucciones publicadas por Schlichter y Frahm (Arch. Pharm. (Weinheim) 326, 429-436 (1993)). Allí, el óxido de ciclohexeno se adiciona a una solución de amoniaco al 35 - 40%, se revuelve por una noche y se concentra la solución hasta secarla. En tal caso la reacción transcurre regularmente de manera estereoespecífica y conduce de manera selectiva hacia trans-2-aminociclohexanol.

55 La transformación del compuesto (II) en el éter de bencilo correspondiente se efectúa en el paso (ii) mediante reacción del trans-isómero del compuesto (II) con un compuesto adecuado de bencilo. Compuestos adecuados de bencilo son, por ejemplo, bencilo haluros, por ejemplo bencilbromuro o bencilcloruro. La reacción se realiza regularmente en presencia de una base. Bases adecuadas son los previamente mencionados hidróxidos de metal alcalino y de metal alcalino térreo y carbonatos de metal alcalino y metal alcalino térreo. La mezcla de enantiómeros

obtenida de esta manera puede aislarse y purificarse mediante métodos conocidos por el experto en la materia. Para esto son especialmente adecuados los métodos de destilación y extracción.

5 Regularmente, en la secuencia de reacción descrita arriba, en el paso (i) se obtiene esencialmente el trans-estereoisómero del compuesto (II) y en el siguiente paso (ii) esencialmente el trans-estereoisómero del compuesto (I), en particular con un exceso de diastereómeros de al menos 99 % de. La mezcla aislada de enantiómeros es, especialmente, el racemato del trans-diastereómero del compuesto (I). Aunque si la mezcla de reacción en el paso (i) contiene una cantidad no considerable de cis-isómero, es decir, más de 1 %, respecto del peso total de los cis/trans-isómeros, éste se separa del trans-isómero preferentemente por medio de métodos adecuados. La mezcla de reacción del paso (i) se somete regularmente al proceso de separación; es decir, antes de la realización del paso (ii), la mezcla de reacción del paso (i) se libera del cis-isómero; aunque de manera alterna, también es posible someter a la mezcla obtenida en el paso (i) solo al paso (iii); es decir, la mezcla cis/trans solo se hace reaccionar con un compuesto adecuado de bencilo y después se separa la mezcla de reacción de esta reacción de bencilación. La mezcla de reacción de la reacción de bencilación comprende los trans- y cis-isómeros del compuesto I; de esta mezcla se aísla el trans-isómero. Respecto de los compuestos de bencilo, de las condiciones de reacción para la bencilación, que son adecuados y preferidos, se hace referencia a las observaciones de arriba. El experto en la materia conoce métodos adecuados de separación; éstos comprenden, por ejemplo, método de extracción y de cromatografía.

20 El trans-estereoisómero del compuesto (I) obtenido de esta manera puede aislarse y opcionalmente purificarse aún más, por ejemplo por medio de cromatografía, extracción o por medio de precipitación como sal de amoniaco.

25 Con el método de la invención pueden obtenerse los enantiómeros individuales del compuesto (I) con una muy alta pureza óptica y química y altos rendimientos. Con el proceso de la invención especialmente se obtiene (R,R)-2-benciloxiciclohexilamina con un exceso de enantiómeros (valor ee) de preferentemente al menos 98% ee, particularmente preferible de al menos 99% ee, más fuertemente preferible de al menos 99,5% ee y en especial de al menos 99,9% ee. La pureza enantiomérica del (S,S)-enantiómero es preferentemente de al menos 97% ee, particularmente preferible de al menos 98% ee, más fuertemente preferible de al menos 99% ee, aún más fuertemente preferible de al menos 99,5% ee y en especial de al menos 99,9% ee. La pureza química de los enantiómeros es preferentemente de al menos 97%, particularmente preferible de al menos 98%, más fuertemente preferible de al menos 99%, aún más fuertemente preferible de al menos 99,9%. El exceso de enantiómeros de las aminas ((R,R)-I) y ((S,S)-I) puede determinarse por medio de procesos corrientes, por ejemplo mediante determinación del valor de rotación óptica o mediante cromatografía en una fase quiral, por ejemplo mediante HPLC o cromatografía de gases por columnas quirales.

35 La presente invención se ilustra por medio de los siguientes ejemplos.

Ejemplos

40 1.) Acilación enantioselectiva y resolución de racemato

La trans-2-benciloxiciclohexilamina (1537 g, 7,49 mol) racémica que se compone en partes iguales de (R,R)-2-benciloxiciclohexilamina y (S,S)-2-benciloxiciclohexilamina, se mezcla conjuntamente con el metoxiacetato de isopropilo (MEI-PE) (425 g, 3,97 mol, 0,53 equivalentes), se enfría a 15° C y a continuación se mezcla con Novozyme 435® (30 g). Después de retirar el baño frío se revolvió la solución de reacción por una noche, en cuyo caso la velocidad con que se revolvió se ajustó de tal manera que la enzima quedó suspendida. Después de 20 horas se filtró la enzima, se lavó el residuo de filtro con tolueno (0,5 l) y el filtrado se libera de componentes volátiles al vacío (15 mbar) a una temperatura máxima de 50°C. El residuo de destilación se llevó a tolueno (2,5 l) y se ajustó a un valor de pH de 1 mediante adición de ácido sulfúrico al 10 % (cerca de 1,8 l), en cuyo caso se tuvo cuidado de no sobrepasar la temperatura de 20°C. La fase acuosa se separó y se extrajo dos veces con tolueno (cada vez con 200 ml). Los extractos orgánicos unidos se lavaron con ácido sulfúrico al 10% (100 ml) y agua (200 ml). Acto seguido, el solvente se retiró a presión reducida y el residuo de destilación se liberó de componentes con bajo punto de ebullición a 0,5 mbar y una temperatura del baño de 180°C. Como residuo se obtuvo (R,R)-(2-benciloxiciclohexilo)metoxiacetamida (920 g, 89 %) como un aceite de alta viscosidad. La recristalización desde ciclohexano caliente y n-pentano dio lugar al producto como un sólido cristalino (punto de fusión 45 - 48°C). El valor ee fue de >99,9%. El (S,S)-enantiómero se encontró en forma de su sal en las fases acuosas unidas de la extracción.

55 ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) de (R,R)-(2-benciloxiciclohexil)metoxiacetamida: δ = 1,22 (m, 2H), 1,38 (m, 2H), 1,58 - 1,68 (m, 1 H), 1,80 (m, 2H), 2,15 (m, 2H), 3,25 (m, 1 H), 3,40 (s, 3H), 3,84 y 3,92 (J_{AB} = 20 Hz, 2H), 3,05 (m, 1 H), 4,48 y 4,68 (J_{AB} = 16Hz, 2H), 6,55 (s, ancho, 1 H), 7,22 - 7,40 (m, 5H).

60

2.) Aislamiento de los enantiómeros

2.1) Aislamiento de (S,S)-2-benciloxiciclohexilamina

Las fases acuosas unidas obtenidas en 1 se mezclaron con tolueno (2 l). El valor de pH se ajustó a cerca de 13 con solución acuosa de NaOH (al 50 %), en cuyo caso la mezcla se mantuvo a una temperatura de menos de 30°C por medio de enfriamiento. Después de filtrar a través de lana de vidrio, la fase acuosa se separó y se extrajo con tolueno dos veces (cada vez de a 200 ml). Las fases orgánicas unidas se lavaron con agua (200 ml). A continuación la fase acuosa se desechó y se retiró el solvente de las fases orgánicas en el rotavapor (vaporizador por rotación). Como residuo se obtuvo un aceite marrón (950g) que además de los residuos de solvente contenía como componente principal 87 % de (S,S)-2-benciloxiciclohexilamina. La destilación a presión reducida (0,5 mbar/ 100°C) dio lugar a (S,S)-2-benciloxiciclohexilamina (653 g, 85%) con una pureza química de 97% y un valor ee de 97,3%.
¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃): δ = 1,08 - 1,38 (m, 4H), 1,58 -1,82 (m, 4H), 1,90 (m, 1 H), 2,25 (m, 1 H), 2,65 (m, 1 H), 3,05 (m, 1H), 4,45 y 4,70 (J_{AB} = 16 Hz, 2H), 7,22-7,40 (m, 5H).

2.2) Preparación de (R,R)-2-benciloxiciclohexilamina

(R,R)-(2-benciloxiciclohexil) metoxiacetamida (1687 g, 6,08 mol) se diluyó con trietanolamina (300 g) y se mezcló revolviendo con hidróxido de sodio acuoso (al 50%, 780 g, 9,75 mol). La mezcla se calentó a una temperatura interna de 120°C y se revolvió vigorosamente. Después de 7 horas se diluyó la mezcla de reacción con agua (500 ml). Después de enfriar a temperatura ambiente se adicionó tolueno (2 l) y se separaron las fases una de la otra. La fase acuosa se extrajo de nuevo con tolueno (200 ml), se unieron las fases orgánicas y las fases orgánicas unidas se lavaron con agua (200 ml). Después de separar la fase acuosa se removió el solvente en el rotavapor (evaporador de rotación) y el residuo se destiló fraccionalmente a presión reducida (punto de ebullición 100°C, a 0,4 a 0,5 mbar). La (R,R)-2-benciloxiciclohexilamina se obtuvo como un líquido claro incoloro en un rendimiento de 1125 g (90%) erhalten. El valor ee fue de > 99,9 %. El valor de rotación [α]_D = -96,8° (c = 2 en metanol)
 Espectro ¹H-NMR idéntico a aquel del (S,S)-anantiómero

3.) Incremento de la pureza química y/u óptica

Estos ejemplos que siguen sirven para ilustrar la alta eficiencia de la precipitación según la invención.

3.1) Precipitación de hidrocloreto de (S,S)-2-benciloxiciclohexilamina

(S,S)-2-Benciloxiciclohexilamina con una pureza química y óptica de 98,5 % respectivamente 89,6% ee (ajustado mediante introducción a la mezcla del (R,R)-enantiómero) se introdujo al tolueno (90 ml) y se mezcló revolviendo con ácido clorhídrico concentrado. Después de finalizar la adición se calentó hasta el reflujo y se reintrodujo el destilado al recipiente de destilación por medio de una trampa de agua llena de tolueno. Después de terminada la remoción de agua, la trampa de agua se intercambió por un condensador de reflujo y se adicionó isopropanol (10 ml). Después de enfriar a temperatura ambiente, el sólido precipitado se aisló mediante filtración, se lavó con tolueno frío (10 ml) y se secó a presión reducida. El hidrocloreto de (S,S)-2-benciloxiciclohexilamina se obtuvo como un sólido incoloro (20,1 g, 83 %) con un punto de fusión de 182 - 184 °C. Una muestra de la 2-Benciloxiciclohexilamina libre, liberada por hidróxido de sodio acuoso, tuvo una pureza química y óptica > 99,9% respectivamente > 99,9% ee.

3.2) Precipitación de hidrocloreto de (S,S)-2-benciloxiciclohexilamina

Al usar (S,S)-2-benciloxiciclohexilamina con una pureza óptica de 85% ee (ajustada mediante introducción a la mezcla del (R,R)-enantiómero), aplicando las instrucciones del ejemplo 3.1), se obtuvo un hidrocloreto con un rendimiento de 82,5% que presentó una pureza de 95% ee.

La repetición de la precipitación condujo a un producto con >99%ee.

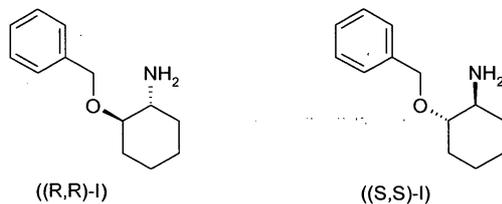
El valor de rotación de la sal de amonio: [α]_D +78,8° (c = 2 en metanol) ¹H-NMR (400 MHz, CDCl₃) del hidrocloreto: δ = 1,05 - 1,38 (m = 3H), 1,70 (m, 3H), 2,10 (m, 1 H), 2,35 (m, 1 H), 3,05 (m, 1 H), 3,55 (m, 1 H) 4,50 und 4,70 (J_{AB} = 16 Hz, 2H), 7,25 - 7,50 (m, 5H), 8,50 (s, ancho, 3H).

3.3) Precipitación de hidrocloreto de (R,R)-2-benciloxiciclohexilamina

A partir de (R,R)-2-benciloxiciclohexilamina con una pureza química de 96% y una pureza óptica de > 99,9%ee se obtuvo el hidrocloreto (324,3 g, 85%) como sólido incoloro. Una muestra, liberada por hidróxido de sodio acuoso, de la amina libre tuvo una pureza química y óptica de > 99,9% respectivamente > 99,9% ee.

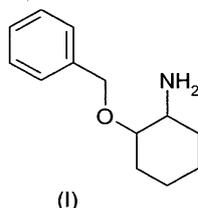
REIVINDICACIONES

1. Método para la preparación de compuestos ópticamente activos de las fórmulas ((R,R)-I) y/o ((S,S)-I)



5 que comprende los siguientes pasos:

(a) reacción de una mezcla enantiomérica del trans-estereoisómero del compuesto de la fórmula (I)



10 con un agente de acilación en presencia de una hidrolasa, en cuyo caso se obtiene una mezcla en la que un enantiómero del trans-estereoisómero del compuesto (I) está presente esencialmente en la forma acilada y el otro enantiómero del trans-estereoisómero del compuesto (I) se presenta esencialmente en la forma no acilada;

(b) separación del enantiómero no acilado del trans-estereoisómero del compuesto (I) de la mezcla obtenida en el paso (a);

15 (c) Hidrólisis del enantiómero esencialmente acilado, obtenido en el paso (b), del trans-estereoisómero del compuesto (I) para producir el enantiómero no acilado correspondiente de la amina (I);

20 (d) transformación de los compuestos ópticamente activos de las fórmulas ((R,R)-I) o ((S,S)-I), obtenidos, en el paso (b) o (c), mediante adición de un formador ácido de sal, en sus sales de amonio, en cuyo caso el formador ácido de sal se adiciona en forma de una solución acuosa y en cuyo caso, después de adicionar la solución acuosa, el agua se retira al menos parcialmente de la solución de reacción;

(e) Aislamiento de las sales de amonio; y

(f) liberación de las bases libres de las fórmulas ((R,R)-I) o ((S,S)-I) de las sales de amonio.

30 2. Método según la reivindicación 1, donde el enantiómero esencialmente no acilado obtenido en el paso (a) es el (S,S)-enantiómero del compuesto (I) y el enantiómero esencialmente acilado es el (R,R)-enantiómero del compuesto (I).

3. Método según una de las reivindicaciones precedentes, donde el agente de acilación se selecciona entre ésteres cuyo componente ácido tiene un grupo que contiene oxígeno, nitrógeno, flúor o azufre en posición α , β o γ respecto del átomo de carbono en el carbonilo.

4. Método según una de las reivindicaciones precedentes, donde el agente de acilación se emplea en el paso (a) en una cantidad de 1,0 a 1,5 equivalentes respecto de la cantidad molar del enantiómero a acilar.

5. Método según una de las reivindicaciones precedentes, donde la hidrolasa se selecciona entre lipasas de bacterias del género Burkholderia o Pseudomonas o de levaduras del género Candida.

6. Método según la reivindicación 5, donde la lipasa son lipasas B de Candida antarctica.

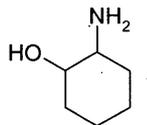
7. Método según una de las reivindicaciones precedentes, donde la reacción con el agente de acilación se realiza en presencia de la hidrolasa sin adición de solventes.

8. Método según una de las reivindicaciones 1 a 6, donde la reacción con el agente de acilación se realiza en presencia de la hidrolasa en un medio de reacción no acuoso.

5 9. Método según una de las reivindicaciones precedentes, donde el formador ácido de sal se selecciona entre ácidos próticos y sus sales de metal alcalino.

10. Método según una de las reivindicaciones precedentes, donde el trans-estereoisómero del compuesto de la fórmula (I) se obtiene:

10 (i) haciendo reacciona óxido de ciclohexeno con amoniac y se obtiene el compuesto de la fórmula (II)



(II) ;

y

15 (ii) se hace reaccionar el trans-estereoisómero del compuesto de la fórmula (II) con un compuesto adecuado de bencilo para producir el trans-estereoisómero del compuesto de la fórmula (I) según la reivindicación 1 o

(iii) se hace reaccionar una mezcla de cis- y trans-isómero del compuesto de la fórmula (II) con un compuesto adecuado de bencilo para producir una mezcla de los éteres de bencilo cis y trans correspondientes y aislando el trans-estereoisómero de la misma.