(19) BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

PATENTSCHRIFT

(12) Ausschließungspatent

(11) DD 298 429 A5

Erteilt gemäß § 17 Absatz 1
Patentgesetz der DDR
vom 27. 10. 1983
in Übereinstimmung mit den entsprechenden
Festlegungen im Einigungsvertrag

5(51) C 12 P 41/00
C 12 P 7/62
C 07 C 69/757

DEUTSCHES PATENTAMT

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21)	C 12 P / 342 664 4	(22)	11.07.89	(44)	20.02.92
(31)	P3922752.9	(32)	11.07.89	(33)	DE

(71) siehe (73)
(72) Schwall, Horst, Dr. Dipl.-Chem.; Sobotta, Rainer, Dr. Dipl.-Chem., DE
(73) Boehringer Ingelheim KG, Zentrale GmbH, ZA Patente, W - 6507 Ingelheim am Rhein, DE

(54) Verfahren zur Herstellung von R-(+)-3-Oxocycloalkancarbonsäureniederalkylestern

(55) Herstellung von R-(+)-3-Oxocycloalkancarbonsäureester; Vorprodukte Hetrazepinarzneistoffe; spezifische enzymatische Spaltung eines Enantiomeren des Racemats; Hydrolase
(57) Zur Gewinnung von R-(+)-3-oxocycloalkancarbonsäureniederalkylestern unterwirft man das entsprechende Racemat bei einem *p*H-Wert von etwa 7 bis 8 der Einwirkung einer Hydrolase, welche das unerwünschte Enantiomere hydrolysiert, wonach der gewünschte Ester aus dem Reaktionsmedium isoliert werden kann.

ISSN 0433-6461

2 Seiten

Patentansprüche:

1. Verfahren zur Herstellung von R-(+)-3-Oxocyclopentan- bzw. -hexancarbonsäure-C_1–C_4-alkylestern aus racemischen 3-Oxocyclopentan- bzw. -hexancarbonsäure-C_1–C_4-alkylestern, **dadurch gekennzeichnet,** daß man das Racemat in einem wäßrigen Medium mit Enzymen behandelt, die zur Hydrolyse des unerwünschten Enantiomeren geeignet sind, die Säure bzw. ihr Salz abtrennt und den R-(+)-3-Oxocycloalkancarbonsäureester isoliert.
2. Verfahren nach Anspruch 1, **dadurch gekennzeichnet,** daß es bei einem *p*H-Wert zwischen etwa 7 und etwa 8 ausgeführt wird.
3. Verfahren nach Anspruch 1 oder 2, **dadurch gekennzeichnet,** daß als Reaktionsmedium Wasser in Mischung mit Cosolventien, vorzugsweise Methanol, Dimethylformamid, Dimethylsulfoxid dient.
4. Verfahren nach Anspruch 1, 2 oder 3, **dadurch gekennzeichnet,** daß die Reaktionstemperatur 0 bis 40°C beträgt.
5. Verfahren nach Anspruch 1, 2, 3 oder 4, **dadurch gekennzeichnet,** daß als Enzym Schweineleberesterase (PLE) verwendet wird.
6. Verfahren nach Anspruch 1, 2, 3, 4 oder 5, **dadurch gekennzeichnet,** daß als Ausgangsstoff racemischer 3-Oxocyclopentan- oder 3-Oxocyclohexancarbonsäuremethylester verwendet wird.
7. R-(+)-3-Oxocyclopentancarbonsäuremethylester.

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von R-(+)-3-Oxocycloalkancarbonsäureniederalkylestern (wobei „Cycloalkan" für Cycloheptan und Cyclohexan und „Niederalkyl" für C_1–C_4-Alkyl steht) durch enzymatische Spaltung der entsprechenden Racemate.

Die erfindungsgemäß herstellbaren Enantiomeren sind wichtige Ausgangsprodukte für die Herstellung bestimmter bekannter, als Arzneistoffe verwendbarer Hetrazepine. Für die Synthese enantiomerenreiner Verbindungen aus dieser Substanzklasse ist die Verwendung von 3-Oxocycloalkancarbonsäureestern vorteilhaft, welche die gleiche Konfiguration am optisch aktiven Zentrum aufweisen wie der Wirkstoff selbst.

Es ist bekannt, 3-Oxocyclopentancarbonsäure mit Hilfe der optisch aktiven Base Brucin zu trennen (Bull. Chem. Soc. Jap **31**, 333–335 [1958]). Zur Herstellung des für die Hetrazepin-Synthese benötigten Esters kann die freigesetzte R-(+)-3-Oxocyclopentancarbonsäure dann nach üblichen Methoden in den Ester übergeführt werden.

Dieses Verfahren ist jedoch für die Übertragung in den technischen Maßstab wenig geeignet, weil Brucin sehr toxisch und schlecht verfügbar ist.

Gemäß der Erfindung können nun die R-(+)-3-Oxocycloalkancarbonsäureester mit guter Ausbeute in geeigneter Reinheit auch in technischem Maßsteb erhalten werden, indem man racemische 3-Oxocycloalkancarbonsäureester mit solchen Hydrolasen behandelt, welche den nicht benötigten Ester spalten, so daß die entstehende Säure leicht vom gewünschten Ester abgetrennt und dieser dann isoliert werden kann.

Das neue Verfahren wird zweckmäßig in einer Mischung aus Wasser und wassermischbaren Cosolventien wie Methanol, Dimethylformamid, Dimethylsulfoxid bei Temperaturen – zwischen etwa 0 und 40, vorzugsweise zwischen 5 und 30°C ausgeführt, wobei der *p*H-Wert mittels eines üblichen Phosphatpuffers und Alkalizugabe zwischen etwa 7 und 8 gehalten wird.

Als Hydrolasen eignen sich vor allem Carboxylesterhydrolasen wie Schweinepankreaslipase (PPL) oder Lipase aus Candida cylinderace (CCL). Besonders geeignet ist Schweineleberesterase (PLE). Die Enzyme können auch in an sich bekannter Weise immobilisiert angewendet werden, z. B. gebunden an das Handelsprodukt Eupergit C (Fa. Röhm Pharma, Darmstadt).

Die benötigte Menge Enzym beträgt etwa 20–200 µ/g Substrat. Als Substrat kommen vor allem in Betracht die Niederalkylester, insbesondere der Methyl- oder Ethylester der 3-Oxocylopentancarbonsäure und der 3-Oxocyclohexancarbonsäure.

Ein Beispiel für die Ausführung des Verfahrens, das gewünschtenfalls modifiziert werden kann, ist nachstehend angegeben.

Herstellung des R-(+)-3-Oxocyclopentancarbonsäuremethylesters

Zu einer gerührten Suspension von 142,2 g (1 mol) racemischen 3-Oxocyclopenptancarbonsäuremethylester in 1500 ml 0,1 molarem Phosphatpuffer, *p*H 7,5, (Kaliumdihydrogenphosphat, Dinatriumhydrogenphosphat) wird bei 20°C Schweineleberesterase (20000 Einheiten) zugegeben. Durch Zudosieren von 1 N-Natronlauge mittels Autotitrator wird die Protonenkonzentration (*p*H 7,5) konstant gehalten. Nach einem Verbrauch von 700 ml der 1 N-Natronlauge wird die Hydrolyse durch Extraktion* abgebrochen. Der nicht umgesetzte Ester wird durch dreimaliges Ausrühren mit je 500 ml Methylenchlorid extrahiert. Die Methylenchloridphase wird über Natriumsulfat getrocknet, filtriert und das Lösungsmittel im Vakuum abdestilliert. Der Rückstand wird ohne Destillation weiterverarbeitet.

Ausbeute: 40 g (56,3% d. Th.), $[\alpha]_D^{20} = +27{,}44$, c = 1,618 (Methanol).

Das Produkt ist für die Weiterverarbeitung ausreichend isomerenrein.

* Bei Verwendung immobilisierten Enzyms kann das Verfahren durch Abfiltrieren beendet werden.