ČESKÁ REPUBLIKA

(19)

ÚŘAD PRŮMYSLOVÉHO VLASTNICTVÍ

ZVEŘEJNĚNÁ PŘIHLÁŠKA VYNÁLEZU

(12)

(22) 25.05.94

(32) 27.05.93

(31) 93/067892

(33) US

(40) 15.12.94

(21) 1278-94

(13) A3

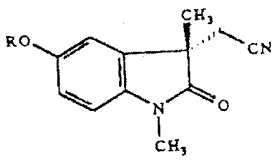
5(51) C 07 D 209/34

(71) HOECHST-ROUSSEL PHARMACEUTICALS INCORPORATED, Somerville, NJ, US;

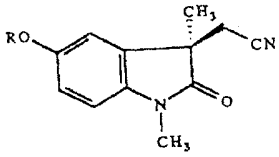
(72) Lee Thomas Bing Kin, Whitehouse Station, NJ, US;
Wong George Seung-Kit, Summit, NJ, US;

(54) Způsob přípravy opticky čistého enantiomeru alkylovaného oxindolu

(57) Způsob přípravy opticky čistého enantiomeru alkylovaného oxindolu obecného vzorce 2a a 2b, ve kterém R znamená methylovou, ethylovou nebo benzylovou skupinu, ze směsi obsahující první a druhý enantiomer uvedeného oxindolu, přičemž první enantiomer je přítomen v množství větším než druhý enantiomer, který zahrnuje zpracování uvedené směsi vhodným rekrystalizačním rozpouštědlem k selektivnímu rozpuštění hlavního podílu uvedeného prvního enantiomeru za vzniku roztoku a k vytvoření sraženiny směsi obsahující druhý enantiomer a oddělení roztoku od sraženiny. Produkt získaný tímto postupem je vhodný k přípravě enantiomerů fyzostigminu a sloučenin podobných fyzostigminu, které mají farmaceutickou účinnost.



(2a)



(2b)

advokát
120 00 PRAHA 2, Hálkova 2

Způsob přípravy opticky čistého enantiomeru alkylovaného oxindolu.

Oblast techniky

Vynález se týká způsobu enantioselektivní syntézy meziproduktů, které se používají pro přípravu fyzostigminu. Konkrétně je možno uvést, že se tento vynález týká postupu stereoselektivní syntézy enantiomerů nitrilů a primárních aminů, které se používají pro syntézu (+)-fyzostigminu a (-)-fyzostigminu.

Dosavadní stav techniky

Cholinergní neuronový systém je možno nalézt v centrálním nervovém systému (CNS), v autonomním nervovém systému a v kosterním motorickém systému. Acetylcholin (ACh) je neurotransmiter vyskytující se ve všech ganglionech, v neuromuskulárním spojení a v post-gangliových synapsích cholinergního nervového systému. Acetylcholin běžně představuje excitační neurotransmiter, který se váže na nikotinové a muskarinové receptory.

Acetylcholinesteráza (AChE) představuje enzym, který hydrolyzuje a tím deaktivuje ACh po svém navázání na receptor. Tento enzym je přítomen ve všech periferních a centrálních místech spojení a v určitých buňkách těla.

Za určitých okolností je vhodné acetylcholinové receptory stimulovat. Jednou z těchto metod je použití nepřímých agonistů, jako jsou například anticholinesterázová léčiva, které inhibují hydrolýzu ACh pomocí AChE. V případě,

že anticholinesterázové léčivo blokuje AChE a inhibuje rozštěpení uvolněného ACh, potom je výsledkem vyšší hladina neurotransmiteru a zvýšená biologická odezva. Podle dosavadního stavu techniky bylo zjištěno, že zejména účinným anticholinesterázovým činidlem je alkaloid fyzostigmin, který byl isolován ze semen bobu kalabarského. Tento fyzostigmin má velikou afinitu na AChE a je proto schopen inhibovat AChE po dlouhé časové intervaly.

Dále se předpokládá, že degenerace cholinergních spojení v CNS a z toho vyplývající výskyt zjevných nepravidelností v neuronovém uspořádání může představovat základní příčinu senilní demence Alzheimerova typu. Tato nemoc vede k progresivní regresi paměti a vzdělávacích schopností. Vzhledem k tomu, že se průměrný věk populace neustále zvyšuje, zvyšuje se i frekvence výskytu Alzheimerovy nemoci, což vyžaduje i značnou pozornost z lékařského hlediska.

Jak již bylo uvedeno bylo podle dosavadního stavu techniky již navrženo použití vhodných cholinergních agonistů, jako jsou například anticholinesterázová léčiva, pro léčení Alzheimerovy nemoci. Ovšem toto léčení pomocí uvedených činidel, to znamená anticholinesterázových léčiv, se neukázalo jako zcela uspokojivé. Z výše uvedeného vyplývá, že v tomto oboru se vyskytuje potřeba vyvinout nové formy léčiv pro léčení uvedené nemoci.

V současné době jsou podle dosavadního stavu techniky ve vývoji pro léčení Alzheimerovy nemoci enantiomery fyzostigminu a farmaceuticky účinné sloučeniny podobné fyzostigminu, jako jsou například látky popisované v patentu Spojených států amerických č. 4 791 107. Vzhledem k nutnosti

uspokojit požadavek na vyvinutí sloučenin, které by měly vyšší farmaceutickou účinnost, vyvstává v tomto oboru potřeba nalezení postupu stereoselektivní syntézy uvedených enantiomerů. Konkrétně je možno uvést, že ohniskem zájmu je zejména enantiomer (-)-fyzostigmin, přičemž zatímco postupy přípravy fyzostigminu a sloučenin podobných fyzostigminu byly již vyvinuty, stále zde existuje potřeba v tomto oboru techniky nalézt stereoselektivní postup přípravy S- nebo (-)-forem.

Podle dosavadního stavu techniky bylo v poslední době při objevení postupu syntetické přípravy (-)-fyzostigminu zjištěno, že důležitým meziproduktem tohoto postupu je sloučenina 1,3-dimethyl-5-methoxyoxindolylethylamin, která se rovněž označuje jako 3-(2-aminoethyl)-1,3-dihydro-1,3-dimethyl-5-methoxy-2H-indol-2-on. Tento amin je sice možno připravit běžnými postupy podle dosavadního stavu techniky, ovšem při provádění tohoto postupu se získá racemická směs. Rozštěpení této racemické aminové směsi na R a S komponenty by umožnilo syntetickou přípravu (+)-fyzostigminu a (-)-fyzostigminu.

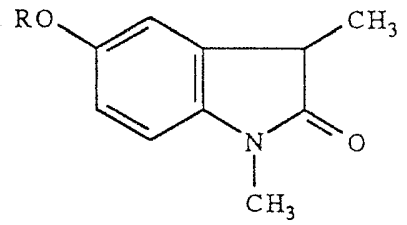
Postup stereoselektivní syntézy aminů a jejich prekurzorů by mohl mít některé určité výhody. Při provádění takovéhoto postupu by byla zmenšena nebo zcela eliminována nutnost štěpení směsi enantiomerů. Zatímco stereoselektivní syntézy, které jsou katalyzovány enzymy, jsou vysoce enantioselektivní, ne-enzymatické procesy mají široký rozsah selektivity. Z výše uvedeného vyplývá, že při provádění postupů založených na syntetických chemických metodách obecně není možno předvídat výsledek tohoto postupu, takže je obtížné dosáhnout úspěšného výsledku při provádění stereoselektivních syntéz.

Z výše uvedeného popisu je patrné, že zde existuje v tomto oboru techniky potřeba vyvinutí chemického postupu přípravy enantiomerů fyzostigminu a sloučenin podobných fyzostigminu. Rovněž zde existuje potřeba vyvinutí postupu asymetrické syntézy meziproduktů, které se používají při tomto shora uvedeném postupu. Pomocí této metody by bylo možno získat meziprodukty o vysokém stupni optické čistoty. Kromě toho je nutno uvést, že je zde požadavek, aby tento postup bylo možno snadno provést, přičemž by bylo možno použít reakčních látek, které jsou snadno dostupné.

Podstata vynálezu

Uvedený vynález odstraňuje nedostatky postupů podle dosavadního stavu techniky a nabízí řešení stereoselektivní syntézy opticky čistých alkylovaných oxindolů, které jsou vhodné pro přípravu enantiomerů fyzostigminu a sloučenin podobných fyzostigminu.

Podstata tohoto postupu podle uvedeného vynálezu spočívá v tom, že se do reakce uvádí racemický oxindol obecného vzorce 1 :

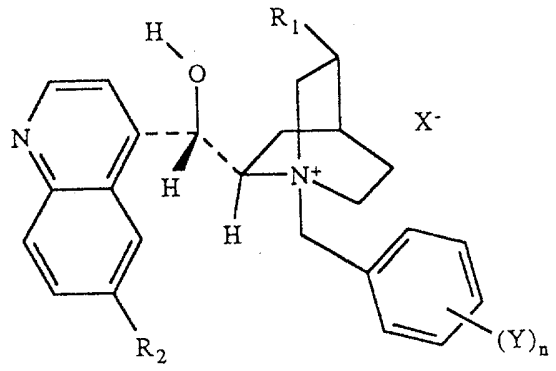


(1)

ve kterém znamená :

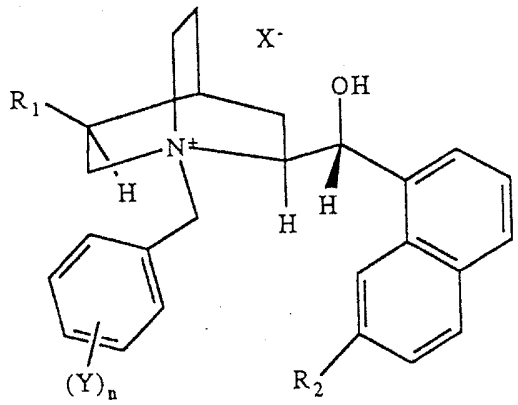
R substituent vybraný ze souboru zahrnujícího methylovou skupinu, ethylovou skupinu a benzylovou skupinu,

s přinejmenším jedním ekvivalentem halogenovaného acetonitrilu vybraného ze souboru zahrnujícího chloracetonitril, bromacetonitril a jodacetonitril. Tato reakce se provádí ve dvoufázové reakční směsi, která má vodnou fázi obsahující silnou anorganickou bazickou látku jako deprotonační činidlo, a rozpouštědlovou fázi obsahující organické rozpouštědlo oxindolu. Tato dvojfázová reakční směs obsahuje katalytické množství substituované N-benzylcinchoniniové nebo chinidiniové sloučeniny obecného vzorce I :



(I)

nebo substituované N-benzylcinchonidiniové nebo chininiové sloučeniny obecného vzorce II :



(II)

ve kterých znamená :

R_1 vinylovou skupinu nebo ethylovou skupinu,

R_2 představuje atom vodíku nebo methoxyskupinu,

X představuje chlor nebo brom,

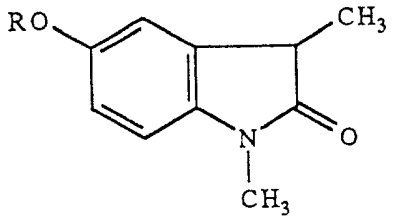
Y je nezávisle vybrán ze souboru zahrnujícího atom vodíku, chloru, bromu, fluoru, trifluormethylovou skupinu a nitrilovou skupinu, a

n znamená 1, 2, 3, 4 nebo 5.

Tyto 5-alkoxy-2,3-dihydro-1,3-dimethyl-2-oxo-1H-indol-3-acetonitrily, které se připraví postupem podle uvedeného vynálezu se rozštěpí výhodně krystalizací a potom je možno je redukovat na odpovídající aminy, které je možno použít pro syntetický postup přípravy stereospecifických forem fyzostigminu a sloučenin podobných fyzostigminu. Zejména je nutno poznamenat, že S-forma 1,3-dimethyl-5-methoxyoxindolylethylaminu je vhodná pro přípravu (-)-fyzostigminu.

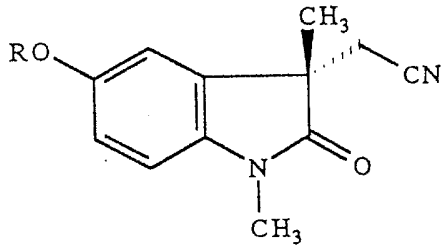
Postup podle uvedeného vynálezu bude pro lepší pochopení znázorněn pomocí reakčního schematu, ve kterém je ilustrována asymetrická syntéza alkylovaných oxindolů 2a a 2b a konverze těchto sloučenin na primární aminy 3a a 3b. Tyto primární aminy jsou vhodnými látkami při přípravě enantiomerů fyzostigminu a sloučenin podobných fyzostigminu, které mají farmaceutickou účinnost.

Reakční schéma



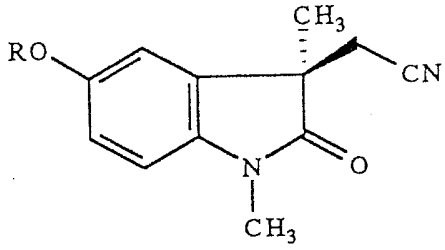
(1)

$ClCH_2CN$ | kat. 50% NaOH toluen 20 °C



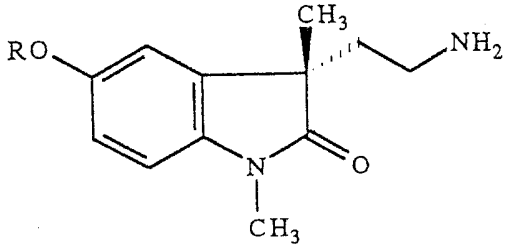
(2a)

+



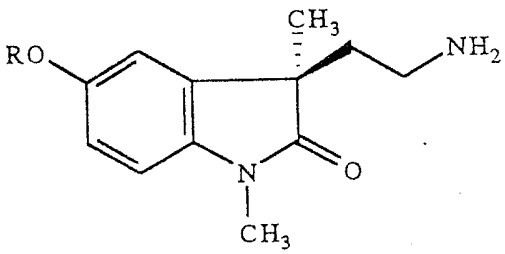
(2b)

H_2/PtO_2 MeOH/konc. HCL



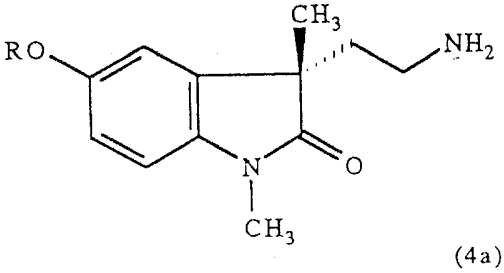
(3a)

+

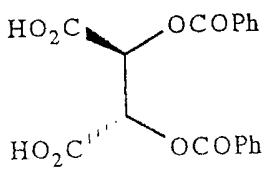


(3b)

D-dibenzoyl-vinná kys.



(4a)



Tato asymetrická syntéza podle uvedeného vynálezu zahrnuje konverzi achirálního substrátu na chirální produkt, přičemž se použije chirálního reakčního činidla. Při provádění tohoto postupu slouží prochirální funkce jako prekurzor chirálního produktu. Při popisu postupu podle uvedeného vynálezu je použito nomenklatury a běžné terminologie v tomto oboru, která bude v následujícím blíže objasněna.

V popisu uvedeného vynálezu se termínem "asymetrická syntéza" míní syntéza, při které se asymetrický atom, místo toho aby byl přítomen v molekule před zahájením syntézy, zavede do této molekuly v průběhu chemické reakce. Takže je možno například uvést, že asymetrická syntéza podle uvedeného vynálezu představuje reakci, při které se achirální jednotka v molekule substrátu převede pomocí chirálního reakčního činidla na chirální jednotku takovým způsobem, že se získají stereoisomerní produkty v nestejných množstvích.

Termínem "enantioselektivní syntéza" se v tomto popisu míní syntéza, při které se připraví jeden enantiomer dané struktury ve značně převažujícím množství nad druhým možným enantiomerem. Pomocí této enantioselektivní syntézy podle uvedeného vynálezu se běžně připraví enantiomer v převažujícím množství v rozsahu od asi 70 % do asi 90 %, obvykle je toto množství v rozmezí od asi 85 % do asi 88 %, vztaženo na celkové množství připravených enantiomerů jako produktů syntézy.

Termíny "enantiomerní směs" a "směs enantiomerů" použité v popisu tohoto vynálezu jsou vzájemně zaměnitelné, přičemž se uvedenými termíny míní racemické modifikace

uvedených enantiomerů. Těmito uvedenými termíny se rovněž míní roztoky obsahující oba uvedené enantiomery, přičemž tyto roztoky projevují buďto (+) nebo (-) optickou rotaci, kterou je možno pozorovat a měřit pomocí polarimetru.

Do rozsahu termínů "rozštěpit" a "štěpení" náleží v popisu uvedeného vynálezu úplné nebo částečné oddělení dvou enantiomerů 5-alkoxy-substituovaných 1,3-dimethyl-2-oxo-1H-indol-3-acetonitrilů. Toto oddělení bude detailněji popsáno v dalším popisu. Ve významu uvedených termínů se míní takové rozdělení, při kterém se získá pouze jeden z uvedených enantiomerů v čistém stavu. Těmito uvedenými termíny se rovněž míní takové rozdělení enantiomerů, při kterém se nezíská žádný z těchto enantiomerů ve zcela oddělené formě od druhého z těchto enantiomerů. Oddělení těchto enantiomerů může nebo nemusí proběhnout kvantitativně.

Silně nakreslený znak ve tvaru šipky ▶ v uvedených chemických vzorcích znamená, že substituenty jsou umístěny nad střední rovinou kruhového systému, na který je tato šipka napojena. Čárkovaný znak ve formě šipky |||· v uvedených chemických vzorcích znamená, že substituenty jsou umístěny pod střední rovinou tohoto kruhového systému. Například je možno uvést, že v případě obecného vzorce pro jeden z primárních aminů připravených postupem podle uvedeného vynálezu je methylová skupina v poloze 3 nad střední rovinou oxindolového kruhu, zatímco aminoethylová skupina je pod střední rovinou tohoto kruhového systému. Z výše uvedeného vyplývá, že methylová skupina a aminoethylová skupina jsou vzájemně v poloze trans vzhledem ke střední rovině tohoto kruhu.

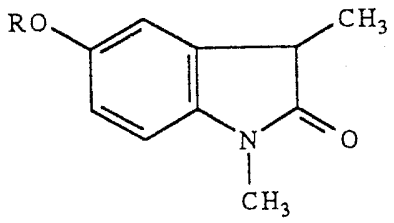
Postup stereoselektivní syntézy je možno podle uvedeného vynálezu provést způsobem znázorněným na výše uvedeném reakčním schematu. Podle tohoto postupu se oxindolová sloučenina 1 alkyluje pomocí halogenovaného acetonitrilu v přítomnosti chirálního katalyzátoru za vzniku enantiomerní směsi obsahující alkylované oxindoly 2a a 2b, které je možno označit jako (R)- a (S)-5-alkoxy-2,3-dihydro-1,3-dimethyl-2-oxo-1H-indol-3-acetonitrily. Podle uvedeného vynálezu bylo zcela neočekávatelně zjištěno, že jeden z těchto alkylovaných oxindolů převažuje v takto získaném reakčním produktu. Kromě toho bylo zcela neočekávatelně zjištěno, že se uvedené alkylované oxindoly 2a a 2b získají v relativně vysokém chemickém výtěžku.

Tato surová enantiomerní směs, která obsahuje tyto alkylované oxindoly 2a a 2b, se potom ve výhodném provedení podrobí krystalizaci. Získaný čistý enantiomer je možno potom hydrogenovat v přítomnosti katalyzátoru za vzniku primárního aminu 3a a 3b, který je možno označit jako (R)- nebo (S)-5-alkoxy-3-(2-aminoethyl)-1,3-dihydro-1,3-dimethyl-2H-indol-2-on. V této souvislosti je nutno zejména poukázat na primární amin obecného vzorce 3a, ve kterém R znamená methylovou skupinu a který představuje důležitý meziprodukt pro přípravu (-)-fyzostigminu.

Tento primární amin je třeba získat v co možná nejčistější formě optického isomeru, neboť za těchto podmínek se získá fyzostigmin a sloučeniny podobné fyzostigminu ve vysokém výtěžku a v požadované optické čistotě. Tohoto výsledku je možno rovněž dosáhnout selektivním vysrážením enantiomeru 3a a 3b za pomoci chirální vinné kyseliny, čímž se získají soli vinné kyseliny obecného vzorce 4a a 4b. Jedna z těchto metod přípravy

enantiomerní směsi obsahující sloučeniny obecného vzorce 3a a 3b bude v dalším popsána detailněji.

Postup asymetrické syntézy podle uvedeného vynálezu se provádí stereoselektivní alkylací oxindolu obecného vzorce 1 :



(1)

ve kterém znamená :

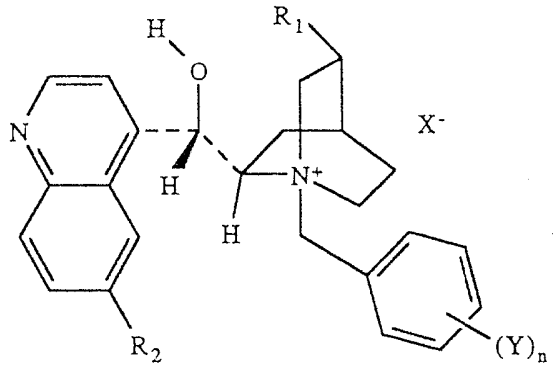
R substituent vybraný ze souboru zahrnujícího methylovou skupinu (sloučenina 1a), ethylovou skupinu (sloučenina 1b) a benzylovou skupinu (sloučenina 1c). Oxindolová sloučenina obecného vzorce 1 představuje racemickou směs. Tato oxindolová sloučenina 1 se použije v postupu podle uvedeného vynálezu ve formě racemické směsi, kterou je možno připravit syntetickými postupy známými z dosavadního stavu techniky, viz. *Julian a kol., J. Chem. Soc., 57: 563-566 a 755-757 (1935)* a patent Spojených států amerických č. 4 791 107.

Tuto oxindolovou sloučeninu obecného vzorce 1 je možno selektivně převést na enantiomerní směs obsahující alkylované oxindoly obecného vzorce 2a a 2b za použití chirálního katalyzátoru pro přenos fází. Jako příklad těchto vhodných katalyzátorů je možno uvést látky odvozené od substituovaných N-benzylcinchoniniových nebo chinidiniových nebo N-benzylcinchonidiniových nebo chininiových halogenidů.

Tato reakce je charakteristická svoji vysokou enantiomerní selektivitou neboli enantioselektivitou.

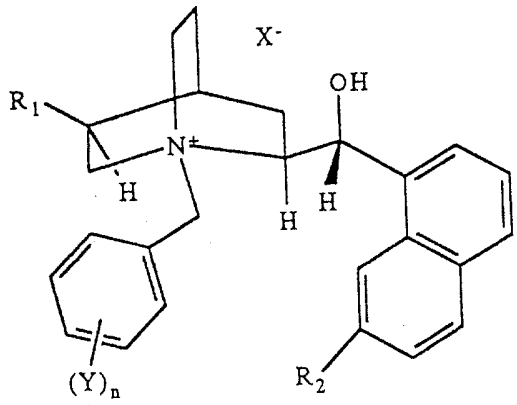
Konkrétně je možno uvést, že stereoselektivní konverzi oxindolu 1 na enantiomerní směs obsahující alkylované oxindoly 2a a 2b je možno provést mícháním racemické směsi obsahující oxindol 1 a chirální katalyzátor ve dvoufázovém systému, který obsahuje silnou anorganickou bazickou látku a organické rozpouštědlo, což se provádí pod atmosférou inertního plynu tak dlouho, dokud reakce neproběhne v podstatě úplně. Tuto chemickou konverzi je možno monitorovat analyzováním reakční směsi metodou GLC (plynokapalinová chromatografie) na přítomnost připravených alkylovaných oxindolů 2a a 2b. To, jestli v reakční směsi převažuje enantiomer 2a nebo 2b, závisí na povaze použitého chirálního katalyzátoru.

Tímto chirálním katalyzátorem pro selektivní konverzi oxindolu 1 na alkylovaný oxindol 2a a 2b je substituovaný N-benzylcinchoniniová nebo chinidiniová sloučenina obecného vzorce I :



(I)

nebo substituovaná N-benzylcinchonidiniová nebo chininiová sloučenina obecného vzorce II :



(II)

ve kterých znamená :

R_1 vinylovou skupinu nebo ethylovou skupinu,

R_2 představuje atom vodíku nebo methoxyskupinu,

X představuje chlor nebo brom,

Y je nezávisle vybrán ze souboru zahrnujícího atom vodíku, chloru, bromu, fluoru, trifluormethylovou skupinu a nitrilovou skupinu, a

n znamená 1, 2, 3, 4 nebo 5.

Substituované N-benzylcinchoniniové a substituované N-benzylchinidiniové sloučeniny mají obecný vzorec I, ve kterém R_2 představuje atom vodíku nebo methoxyskupinu. Substituované N-benzylcinchonidiniové a substituované N-benzylchinininiové sloučeniny mají obecný vzorec II, ve kterém R_2 představuje atom vodíku nebo methoxyskupinu. Ve výhodném provedení podle uvedeného vynálezu jsou uvedenými katalyzátory sloučeniny, ve kterých Y představuje 3,4-dichlor nebo 4-trifluormethylovou skupinu. Tyto katalyzátory je možno připravit za pomoci postupů známých z dosavadního stavu techniky, viz. například *J. Org. Chem.*

1987, 52, 4745-4752, přičemž tyto látky jsou běžně obchodně dostupné, například od firmy *Fluka Chemical Co., Hanppauge, N.Y. 11788*, nebo od firmy *Chemical Dynamics Corporation of South Plainfield, New Jersey*.

Substituované N-benzylcinchoniniové a chinidiniové sloučeniny a substituované N-benzylcinchonidiniové a chininiové sloučeniny se používají při provádění asymetrické syntézy podle uvedeného vynálezu v množství dostatečném ke katalyzování reakce oxindolu a halogenovaného acetonitrilu za účelem přípravy jednoho z enantiomerů alkylovaných oxindolů v převažujícím množství nad druhým enantiomerem. Například je možno uvést, že je možno tento katalyzátor použít v množství v rozmezí od asi 5 do asi 50 molových %, vztaženo na množství použité oxindolové sloučeniny **1**. Ve výhodném provedení podle uvedeného vynálezu se tyto sloučeniny použijí jako katalyzátory v množství od asi 10 do asi 15 molových %, vztaženo na oxindolovou sloučeninu **1**.

Při použití substituované N-benzylcinchoniniové a chinidiniové sloučeniny se získá v přebytku alkylovaný oxindol obecného vzorce **2a**, zatímco při použití N-benzylcinchonidiniové a chininiové sloučeniny se získá v přebytku alkylovaný oxindol obecného vzorce **2b**, jestliže se tyto sloučeniny použijí v katalyticky účinném množství. V této souvislosti je třeba poznamenat, že je možno tuto asymetrickou syntézu podle uvedeného vynálezu provést rovněž v přítomnosti povrchově aktivního činidla, jako je například *Triton x-400*, viz. patenty Spojených států amerických č. 4 578 509 a 4 605 761.

Podle dosavadního stavu techniky bylo zjištěno, že alkylace oxindolu probíhá běžným mechanizmem. Z tohoto důvodu se předpokládalo, že se získá racemická směs alkylovaných oxindolů. Podle uvedeného vynálezu bylo ovšem zcela neočekávatelně zjištěno, že alkylační reakce je stereoselektivní a že jeden z enantiomerů alkylovaných oxindolů je možno získat v přebytku, což závisí na výběru katalyzátoru. Kromě toho je nutno uvést, že převažující enantiomer se získá ve vysokém chemickém výtěžku. Tento chemický výtěžek je přinejmenším asi 60 %, vztaženo na oxindol obecného vzorce 1,, přičemž obvykle je tento výtěžek v rozmezí od asi 65 % do asi 85 %, vztaženo na oxindol obecného vzorce 1.

Postup stereoselektivní syntézy podle uvedeného vynálezu se provádí ve dvojfázové reakční směsi, která je tvořena organickou rozpouštědlovou fází obsahující racemickou směs oxindolu 1 a katalyzátor a vodnou fází obsahující silnou anorganickou bazickou sloučeninu. Tento oxindol obecného vzorce 1 a katalyzátor jsou rozpuštěny v aromatickém uhlovodíkovém rozpouštědle. Rovněž je možno použít halogenovaných aromatických rozpouštědel a halogenovaných alifatických rozpouštědel. Mezi typická rozpouštědla, která je možno použít pro tyto účely je možno zařadit benzen, toluen, xylen, chlorbenzen a methylenchlorid. Rovněž je možno použít rozpouštědlové směsi obsahující hexan a cyklohexan. Podle uvedeného vynálezu bylo zjištěno, že přijatelných výsledků je možno dosáhnout při použití rozpouštědel technické jakosti. Ve výhodném provedení podle uvedeného vynálezu se jako rozpouštědlo používá toluen, neboť při použití reakční směsi obsahující toto rozpouštědlo je možno dosáhnout nejvyšší selektivity pokud se týče alkylovaného oxindolu obecného vzorce 2a nebo

2b, jak je uvedeno v následujících příkladech. Selektivitu dosahovanou s jinými rozpouštědly je možno optimalizovat s minimálním rozsahem experimentálních postupů.

Vodná fáze reakční směsi obsahuje silnou anorganickou bazickou látku, jako je například hydroxid draselný, hydroxid sodný nebo hydroxid lithný. Podle uvedeného vynálezu bylo zjištěno, že přijatelných výsledků se dosáhne s bazickými látkami technické jakosti. Ve výhodném provedení podle uvedeného vynálezu se jako bazické látky použije hydroxid sodný, neboť tato látka je poměrně laciná, je snadno dostupná a účinná při provádění postupu podle vynálezu.

Tato anorganická bazická látka se používá v množství dostatečném k podpoření katalytického účinku při provádění uvedené reakce. Tato bazická látka funguje jako deprotonační činidlo. Podle uvedeného vynálezu bylo zjištěno, že koncentrace této bazické látky ve vodné fázi ovlivňuje selektivitu. Koncentrace této bazické látky ve vodné fázi se obvykle pohybuje v rozmezí od přibližně 25 % do přibližně 50 % hmotnosti. S tím, jak koncentrace této bazické látky klesá, rovněž klesá i selektivita jednoho z alkylovaných oxindolů.

Vodná fáze obsahující anorganickou bazickou sloučeninu by měla mít minimální rozpustnost v organické rozpouštědlové fázi obsahující racemickou oxindolovou sloučeninu obecného vzorce 1 a katalyzátor, neboť je třeba udržet dvojfázovou reakční směs. Objemový poměr organické fáze této reakční směsi k vodné fázi se obvykle pohybuje v rozmezí od asi 3 : 1 do přibližně 10 : 1. Při provádění postupu podle uvedeného vynálezu bylo zjištěno, že příznivých výsledků je

možno dosáhnout při použití reakční směsi obsahující organickou fázi a vodnou fázi v objemovém poměru přibližně 5 : 1.

Poměr organické rozpouštědlové fáze a oxindolové sloučeniny obecného vzorce 1 v reakční směsi se obvykle pohybuje v rozmezí od asi 20 : 1 do asi 80 : 1, ve výhodném provedení podle uvedeného vynálezu je tento poměr v rozmezí od asi 30 : 1 do asi 45 : 1. Zejména výhodný poměr je poměr přibližně 40 : 1. Tyto výše uvedené poměry vyjadřují poměr objemu organické rozpouštědlové fáze ke hmotnosti oxindolu obecného vzorce 1.

Uvedeným alkylačním činidlem používaným pro racemickou směs obsahující oxindolovou sloučeninu obecného vzorce 1 může být halogenovaný acetonitril, který je vybrán ze souboru zahrnujícího chloracetonitril, bromacetonitril a jodacetonitril. Ve výhodném provedení podle vynálezu se jako alkylačního činidla používá chloracetonitrilu, neboť při jeho použití se dosáhlo nejvyšší selektivity pokud se týče alkylovaných oxindolů obecného vzorce 2a a 2b. Při provádění postupu podle vynálezu bylo zjištěno, že uspokojivých výsledků se dosáhne při použití alkylačních činidel technické jakosti.

Tento halogenovaný acetonitril se používá při provádění postupu podle vynálezu v množství odpovídajícímu přinejmenším asi jednomu ekvivalentu, a ve výhodném provedení v množství odpovídajícímu asi 1,1 až asi 1,5 ekvivalentu, racemické směsi obsahující oxindol 1. Obecně je možno uvést, že při zvyšujícím se množství alkylačního činidla vzhledem k množství oxindolové sloučeniny vzrůstá chemický výtěžek, přičemž ovšem při použití alkylačního

činidla ve velkém přebytku nebyla zaznamenána žádná zvláštní výhoda.

Stereoselektivní syntéza podle uvedeného vynálezu se obvykle provádí při teplotě pohybující se v rozmezí od asi 5 °C do asi 30 °C. Při použití nižších teplot se obyčejně dosahuje vyšších hodnot selektivity na alkylovaný oxindol obecného vzorce **2b** a **2b**, přičemž ovšem je třeba se vyvarovat toho, aby při použití nízkých teplot se anorganická bazická látka nevydělovala z vodného roztoku. Ve výhodném provedení podle uvedeného vynálezu se tato stereoselektivní syntéza provádí při teplotě pohybující se v rozmezí od asi 15 °C do asi 25 °C, zejména je výhodné použití teploty přibližně 20 °C.

Tato stereoselektivní syntéza alkylovaného oxindolu obecného vzorce **2a** a **2b** představuje exotermickou reakci. Tuto reakční směs je možno chladit pomocí vnějších nebo vnitřních prostředků tak, aby byla udržena požadovaná reakční teplota. Potřeba chlazení reakční směsi může být minimalizována nebo dokonce eliminována tak, že se halogenovaný acetonitril přidává do dvojfázové reakční směsi postupně.

Při provádění asymetrické syntézy podle vynálezu je vhodné chránit reakční směs vrstvou ochranného inertního plynu, přičemž cílem tohoto opatření je zabránění přístupu kyslíku k reakční směsi. Jako příklad těchto vhodných inertních plynů je možno uvést dusík, argon a helium. Ve výhodném provedení se používá dusíku, přičemž toto řešení je nejekonomičtější.

Uvedenou stereoselektivní syntézu podle vynálezu je možno provést za atmosférického tlaku. Při provádění tohoto postupu je třeba se vyhnout tlakům nižším než je tlak atmosférický.

Podle uvedeného vynálezu bylo zjištěno, že alkylace racemické směsi obsahující oxindol obecného vzorce 1 probíhá velmi rychle. Při postupném přidávání alkylačního činidla do uvedené dvojfázové reakční směsi se reakce v podstatě ukončí v intervalu přibližně 1 hodiny až asi 2 hodin. Při provádění tohoto postupu je možno použít i kratších reakčních intervalů, ovšem v tomto případě je nutno reakční směs chladit. Podobným způsobem je možno použít i delších reakčních intervalů, ovšem při použití delších časových intervalů nebyla zaznamenána žádná zvláštní výhoda. V každém případě je třeba provést alkylační reakci v podstatě úplně, což je možno monitorovat plynovou chromatografickou metodou nebo jinými vhodnými prostředky. Reakční směs je možno promíchávat, čímž se dosáhne optimalizování selektivity alkylovaného oxindolu **2a** a **2b**.

Dvojfázovou reakční směs je možno podle vynálezu připravit následujícím způsobem. Racemická směs obsahující oxindolovou sloučeninu 1 se rozpustí v organickém rozpouštědle a k takto získanému roztoku se přidá katalyzátor. Potom je možno přidat k tomuto organickému roztoku vodný roztok obsahující anorganickou bazickou sloučeninu a promíchávat tuto směs po dostatečně dlouhý časový interval za vzniku dvojfázové reakční směsi. Podle vynálezu bylo zjištěno, že k přípravě této dvojfázové reakční směsi postačuje mírné promíchávání prováděné po dobu přibližně 10 minut. Při pomalém přidávání alkylačního činidla je možno dosáhnout zlepšení selektivity

převažujícího alkylovaného oxindolu obecného vzorce 2a nebo 2b.

Optickou čistotu enantiomerů připravených postupem podle uvedeného vynálezu je možno vyjádřit jako přebytek enantiomeru v reakčním produktu v procentech vztažený na celkové množství enantiomerů obsažených v původním roztoku. Toto množství enantiomeru se běžně označuje jako procentuální enantiomerní přebytek, neboli zkratkou "% ee". Procentuální enantiomerní přebytek je tedy možno vypočítat podle rovnice :

$$\% \text{ ee} = \frac{([A] - [B])}{([A] + [B])} \times 100$$

ve kterém znamená :

[A] koncentraci jednoho enantiomeru, a

[B] koncentraci druhého enantiomeru.

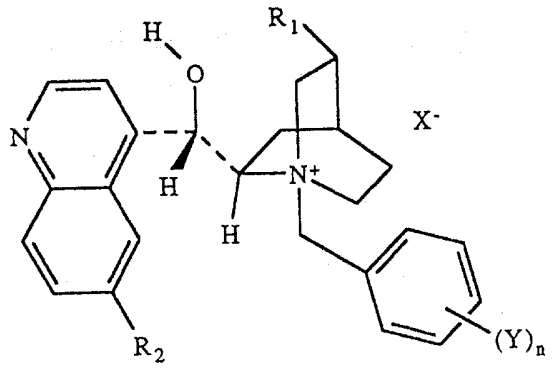
V případě úplně rozštěpeného materiálu se enantiomerní přebytek rovná hmotnosti celkového materiálu, takže % ee a tím i optická čistota je 100 %. Koncentrace každého z uvedených enantiomerů je samozřejmě vyjádřena stejným způsobem, přičemž tuto koncentraci je možno vyjádřit buďto v procentech hmotnosti nebo v molárních procentech, neboť tyto enantiomery mají stejnou molekulovou hmotnost.

Podle uvedeného vynálezu bylo testováno velké množství N-benzylcinchoniniových solí pro použití k selektivní konverzi oxindolové sloučeniny obecného vzorce 1 na

alkylovanou oxindolovou sloučeninu obecného vzorce 2a. Všechny reakce byly prováděny mícháním reakční směsi obsahující oxindol 1 (2,5 mmolu) a vhodný katalyzátor (0,25 mmolu) ve dvojfázovém systému obsahujícím 8 mililitrů 50 %-ního hydroxidu sodného NaOH a 20 mililitrů toluenu, což bylo prováděno pod atmosférou dusíku po dobu 10 minut. Dávkovacím čerpadlem byl potom přidán roztok chloracetonitrilu (2,75 mmolu) v 10 mililitrech toluenu, což bylo provedeno v intervalu 1 hodiny. Po dokončení tohoto přídavku byla reakční směs analyzována plynovou chromatografickou metodou za účelem zjištění rozsahu chemické konverze. Enantiomerní přebytek alkylovaného oxindolu obecného vzorce 2a byl stanoven metodou HPLC v koloně Chiralcel OD nebo v koloně Chiralcel OJ (*Daicel Chemical Industries Ltd.*) a NMR spektroskopickou analýzou za použití tris[3-(heptafluorpropyl-hydroxymethylen)-d-kafrátu] europitého jako reakčního činidla pro chirální posun. Získané výsledky jsou uvedeny v následující tabulce č. 1.

T A B U L K A č. 1

Asymetrická alkylace oxindolu I za použití katalyzátoru pro chirální fázový přenos.



(I)

Postup	Katalyzátory				% ee
	R_1	R_2	Y	X	
1	vinyl	H	H	Cl	> 3
2	vinyl	H	H	Br	10
3	vinyl	H	2-F	Br	5
4	vinyl	H	2-CF_3	Br	4
5	vinyl	H	2,6-Cl_2	Br	> 3
6	vinyl	H	3-F	Br	8
7	vinyl	H	3-Br	Br	48

T A B U L K A č. 1 (pokračování)

Postup	Katalyzátory				% ee
	R_1	R_2	Y	X	
8	vinyl	H	4-Br	Br	68
9	vinyl	H	4-CF_3*	Br	72
10	vinyl	H	4-CN	Br	> 2
11	vinyl	H	3,4-Cl_2	Br	78
12	vinyl	H	3,4-Cl_2	Br	77
13**	vinyl	H	3,4-Cl_2**	Cl	17
14***	vinyl	H	4-CF_3	Br	61
15	Et	H	4-CF_3	Br	69
16	vinyl	OCH_3	H	Br	39
17	vinyl	OCH_3	3,4-Cl_2	Br	77

* 4-CF_3BCMB
** toluen/hexan v poměru 1 : 1
*** 3,4-Cl_2-BCMC
**** 25 % NaOH

Z výše uvedených výsledků je zřejmé, že substituce na 3. a/nebo 4. poloze benzylové části uvedeného katalyzátoru za skupiny přitahující elektrony, jako je například brom, chlor nebo CF_3 významně zvyšuje hodnotu % ee alkylovaného oxindolu obecného vzorce 2a (viz. postupy 7, 8, 9 a 12). K této skutečnosti dochází pravděpodobně v důsledku tvorby silnějšího iontového páru, jejíž výsledkem je zvýšení pozitivního charakteru na N-atomu cinchoniniového katalyzátoru. To, že toto pozorované zvýšení hodnoty % ee pomocí skupin přitahujících elektrony nastává zejména v důsledku induktivního účinku a nikoliv rezonančního účinku, je potvrzeno nízkou hodnotou % ee pozorovanou u 4-kyanobenzylcinchoniniumbromidu (viz. postup 10). V případě katalyzátorů substituovaných fluorem bylo dosaženo zcela neočekávaně nízkých hodnot % ee, přičemž důvody tohoto jevu nebyly dosud zjištěny (viz. postupy 3 a 6). Jak je možno předpokládat chování dihydrocinchoniniového katalyzátoru je podobné jako chování odpovídající cinchoniniové soli (viz. postupy 9 a 15). Neočekávatelně byla zjištěna pouze průměrná hodnota % ee u benzylchinidiniumbromidu (viz. postup 16). V případě, že se dále substituuje benzylová skupina skupinou přitahující elektrony, nedosáhne se žádného zvláštního zlepšení hodnoty % ee (viz. postup 17). V případě, kdy hodnota % ee reakce byla nízká (viz. postupy 1 a 2), potom byl pozorován slabý protiiontový účinek. V případech, kdy byla hodnota % ee značně vysoká, potom tento protiiontový účinek nebyl zjištěn.

Takto získaná surová enantiomerní směs obsahující alkylované oxindoly obecného vzorce 2a a 2b se potom podrobí výhodné rekrystalizaci, při které se od zbytkového racemátu oddělí požadovaný opticky čistý alkylovaný oxindol, to

znamená R-enantiomer nebo S-enantiomer, ve vysoké optické čistotě. Racemát se ve výhodném provedení vysráží, přičemž ve filtrátu zůstává opticky čistý oxindol.

K provedení tohoto postupu je třeba zvolit vhodné rekrystalizační rozpouštědlo. Toto rozpouštědlo je možno vybrat z následujících skupin látek :
(1) vhodná protická rozpouštědla, jako jsou například alkoholy, například methanol, ethanol, isopropanol, atd.,
(2) vhodná aprotická rozpouštědla, jako jsou například alifatické ethery, například terc.-butylmethylether, isopopylether, atd., a
(3) vhodné směsi protických a aprotických rozpouštědel.

Připravená enantiomerní směs obsahující alkylované oxindoly obecného vzorce 2a a 2b se zpracuje rekrystalizačním rozpouštědlem při vhodné teplotě, přičemž tato teplota se obvykle pohybuje v rozmezí od teploty místnosti do teplot mírně vyšších, jako je například teplota v rozmezí od 25 °C do 30 °C, a po dostatečný časový interval, čímž se dosáhne úplného rozštěpení této směsi. Takto získaný roztok, který obsahuje rozpuštěnou směs sloučenin obecného vzorce 2a a 2b a zvolené rekrystalizační rozpouštědlo, se potom ponechá ochladit na teplotu místnosti a/nebo se nechá při teplotě místnosti po určitý krátký časový interval, obvykle je to například interval v rozmezí od 5 do 10 minut, přičemž za těchto podmínek hlavní podíl, což je obvykle 65 až 82 %, prvního čistého enantiomeru (buďto R-forma nebo S-forma), který byl původně přítomen v reakční směsi obsahující sloučeniny obecného vzorce 2a a 2b v obohaceném podílu těchto látek, zůstává v roztoku, zatímco zbytek obsahující směs druhého enantiomeru a zbytek prvního enantiomeru se vysráží z roztoku ve formě směsi

pevných látek.

Získaná výsledná dvoufázová směs obsahující čistý enantiomer v roztoku a vysráženou pevnou látku se případně, ale výhodně, zpracovává při teplotě v rozmezí od asi 0 °C do asi 5 °C, jako například za pomoci ledové lázně, po časový interval dostatečný k úplnému vysrážení výsledného zbytku pevné směsi enantiomerů.

Jak již bylo výše uvedeno, alkylace oxindolu podle uvedeného vynálezu probíhá stereoselektivním způsobem, přičemž se jeden z enantiomerů alkylovaného oxindolu získá v přebytku, což závisí na výběru použitého katalyzátoru. Z výše uvedeného vyplývá, že v enantiomerní směsi obsahující sloučeniny obecného vzorce **2a** a **2b** je obsažen v obohaceném podílu buďto R-enantiomer nebo S-enantiomer. Při provádění tohoto postupu se právě tento obohacený enantiomer odděluje od vysrážené pevné směsi obsahující přinejmenším druhý enantiomer.

Takto získaná dvoufázová směs se potom podrobí běžnému rozdělení, jako je například filtrace, přičemž se vysrážený zbytek oddělí od filtrátu obsahujícího první opticky čistý enantiomer. Získaný filtrát se potom zkoncentruje za použití běžných prostředků, jako je například rotační odpařování, a první opticky čistý enantiomer se oddělí, například filtrací. Výsledný první enantiomer má vysokou optickou čistotu.

Takto získaný první enantiomer je potom možno dále zpracovávat a připravit aminové sloučeniny obecného vzorce **3a** a **3b** a potom připravit eserethol nebo esermethol, přičemž k provedení tohoto postupu se použije běžných metod známých

z dosavadního stavu techniky, viz. *Yu & Brossi, Heterocycles, 1988, Vol. 27, 1709*, přičemž se získají produkty buďto v R-konfiguraci nebo S-konfiguraci. Při použití metod běžně známých z dosavadního stavu techniky, viz. například *Lee a kol., J. Org. Chem., 1991, Vol. 56, 872*, je možno tento eserethol převést na fyzostigmin a podobné sloučeniny.

Konkrétně je možno uvést, že je možno opticky čistý první enantiomer redukovat pomocí vodíku v kyselině octové a v přítomnosti oxidu platiny. Aminové sloučeniny obecného vzorce 3a a 3b je možno potom zpracovat ethylesterem kyseliny chlormravenčí v přítomnosti triethylaminu v toluenu. Po redukční cyklizaci prováděné za použití lithiumaluminiumhydridu v tetrahydrofuranu následuje chromatografické čištění, čímž se získá eserethol nebo esermethol ve vysoké optické čistotě.

Takto získaný eserethol nebo esermethol se uvádí do reakce s kyselinou fumarovou, což se provede běžným způsobem známým z dosavadního stavu techniky, obvykle například při teplotě v rozmezí od 45 °C do 50 °C po dobu v rozmezí od 0,5 hodiny do 1 hodiny, čímž se získá fumarátová sůl, která se potom rekrystaluje z methanolu, přičemž se dosáhne v podstatě 100 %-ní enantiomerní čistoty.

Koncentraci enantiomerů v reakční směsi získané postupem podle uvedeného vynálezu je možno stanovit :
(1) zpracováním primárního aminu (-)-menthyl-chlormravenčanem, po kterém následuje analýza odpovídajících diastereomerních karbamátů metodou HPLC, nebo
(2) zpracováním aminu (+)-kafrsulfonylchloridem, po kterém následuje analýza odpovídajícího sulfonamidu metodou HPLC.

Relativní složení této směsi enantiomerů je dáno plochami pod píky odpovídajícími jednotlivým diastereomerům v HPLC chromatogramech.

Absolutní konfigurace enantiomeru se zjistí převedením tohoto aminu na známou sloučeninu, jejíž absolutní konfigurace je známa. Například je možno v tomto směru uvést, že absolutní konfiguraci uhlíkového atomu na poloze 10 primárního aminu je možno stanovit převedením solí aminových sloučenin obecných vzorců 3a a 3b s kyselinou vinnou na odpovídající opticky čisté primární aminy obecných vzorců 3a a 3b neutralizací pomocí zředěného roztoku hydroxidu sodného. Takto získaný výsledný opticky čistý amin je možno redukčně cyklizovat ve vysokém výtěžku zahříváním tohoto aminu při teplotě varu pod zpětným chladičem v n-butanolu v přítomnosti přebytku kovového sodíku. Takto získaný produkt je možno potom převádět na různé deriváty za pomoci (S)-(-)-α-methylbenzylisokyanátu. Optickou čistotu a absolutní konfiguraci takto získaného výsledného produktu je možno potom potvrdit analýzou metodou HPLC provedenou známým způsobem, viz. *Schonenberger a Brossi, Helv. Chim. Acta, 69: 1486 (1986)*.

Příklady provedení vynálezu

Postup stereoselektivní syntézy enantiomerů alkylovaných oxindolů podle uvedeného vynálezu bude v dalším podrobněji popsán s pomocí příkladů provedení, které mají pouze ilustrativní charakter aniž by jakýmkoliv způsobem omezovaly rozsah tohoto vynálezu. V těchto příkladech jsou všechny díly, podíly, poměry a procenta hmotnostní, pokud nebude výslovně uvedeno jinak.

Alkylace za použití chirálního fázového přenosu.

P ř í k l a d 1

Postup přípravy N-[4-(trifluormethyl)benzyl]cinchoninium-bromidu.

Podle tohoto příkladu se postupovalo tak, že k roztoku obsahujícímu 0,48 gramu (±)-5-methoxy-1,3-dimethyloxindolu ve 20 mililitrech toluenu bylo přidáno pod atmosférou dusíku 0,13 gramu (což představuje 10 molových %) N-[4-(trifluor-methyl)benzyl)]cinchoniniumbromidu (4-CF_3-BCNB), přičemž potom následoval přídavek 8 mililitrů 50 %-ního hydroxidu sodného NaOH. Po promíchání této směsi, které bylo prováděno po dobu 10 minut, byl přidán roztok obsahující 0,21 gramu chloracetonitrilu ve 20 mililitrech toluenu, přičemž tento přídavek byl prováděn po kapkách během intervalu 1 hodiny. Po dokončení reakce bylo k získané reakční směsi přidáno 25 mililitrů ledově chladné vody. Takto získaná směs byla zfiltrována přes malé celitové lože, které bylo opláchnuto 10 mililitry toluenu. Získaný filtrát byl potom převeden do oddělovací nálevky, ve které vznikly dvě vrstvy. Toluenový extrakt byl potom zkoncentrován za sníženého tlaku a zbytek byl analyzován v koloně *Daicel Chiralcel OD*, přičemž jako elučního činidla bylo použito směsi 10 % isopropanolu v hexanu. Enantiomerní přebytek sloučeniny obecného vzorce 2a, ve které R představuje methylovou skupinu, činil v tomto produktu 72 %.

P ř í k l a d 2

Použití N-[3,4-(dichlor)benzyl]cinchoniniumchloridu jako katalyzátoru.

Při provádění postupu podle tohoto příkladu se postupovalo stejným způsobem jako v příkladu 1, přičemž podle tohoto provedení bylo použito 0,12 gramu N-[3,4-(dichlor)benzyl]cinchoniniumchloridu (3,4-Cl_2-BCNC) jako katalyzátoru a postup probíhal identickým způsobem. Enantiomerní přebytek sloučeniny obecného vzorce 2a, ve kterém R představuje methylovou skupinu, činil v tomto případě 78 %, což bylo stanoveno analýzou reakční směsi metodou HPLC.

P ř í k l a d 3

Použití N-[4-brombenzyl]cinchoniniumbromidu jako katalyzátoru.

Při provádění postupu podle tohoto příkladu se postupovalo stejným způsobem jako v příkladu 1, přičemž podle tohoto provedení bylo použito 0,14 gramu N-[4-brombenzyl]cinchoniniumbromidu (4-Br-BCNB) jako katalyzátoru a postup probíhal identickým způsobem. Enantiomerní přebytek sloučeniny obecného vzorce 2a, ve kterém R představuje methylovou skupinu, činil v tomto případě 68 %, což bylo stanoveno analýzou reakční směsi metodou HPLC.

P ř í k l a d 4

Použití N-[3-brombenzyl]cinchoniniumbromidu jako katalyzátoru.

Při provádění postupu podle tohoto příkladu se postupovalo stejným způsobem jako v příkladu 1, přičemž podle tohoto provedení bylo použito 0,14 gramu N-[3-brombenzyl]cinchoniniumbromidu (3-Br-BCNB) jako katalyzátoru a postup probíhal identickým způsobem.

Enantiomerní přebytek sloučeniny obecného vzorce 2a, ve kterém R představuje methylovou skupinu, činil v tomto případě 48 %, což bylo stanoveno analýzou reakční směsi metodou HPLC.

P ř í k l a d 5

Použití N-benzylchinidiniumbromidu jako katalyzátoru.

Při provádění postupu podle tohoto příkladu se postupovalo stejným způsobem jako v příkladu 1, přičemž podle tohoto provedení bylo použito 0,13 gramu N-benzylchinidiniumbromidu (BQNC) jako katalyzátoru a postup probíhal identickým způsobem. Enantiomerní přebytek sloučeniny obecného vzorce 2a, ve kterém R představuje methylovou skupinu, činil v tomto případě 39 %, což bylo stanoveno analýzou reakční směsi metodou HPLC.

P ř í k l a d 6

Použití N-[3,4-dichlorbenzyl]chinidiniumchloridu jako katalyzátoru.

Při provádění postupu podle tohoto příkladu se postupovalo stejným způsobem jako v příkladu 1, přičemž podle tohoto provedení bylo použito 0,20 gramu N-[3,4-dichlorbenzyl]chinidiniumchloridu (3,4-Cl_2-BQNC) jako katalyzátoru a postup probíhal identickým způsobem. Enantiomerní přebytek sloučeniny obecného vzorce 2a, ve kterém R představuje methylovou skupinu, činil v tomto případě 77 %, což bylo stanoveno analýzou reakční směsi metodou HPLC.

P ř í k l a d 7

Použití N-[4-(trifluormethyl)benzyl]dihydrocinchoninium-bromidu jako katalyzátoru.

Při provádění postupu podle tohoto příkladu se postupovalo stejným způsobem jako v příkladu 1, přičemž podle tohoto provedení bylo použito 0,13 gramu N-[4-(trifluormethyl)benzyl]dihydrocinchoniniumbromidu (4-CF_3-H_2-BCNB) jako katalyzátoru a postup probíhal identickým způsobem. Enantiomerní přebytek sloučeniny obecného vzorce 2a, ve kterém R představuje methylovou skupinu, činil v tomto případě 69 %, což bylo stanoveno analýzou reakční směsi metodou HPLC.

P ř í k l a d 8

Použití N-[4-chlorbenzyl]cinchoniniumbromidu jako katalyzátoru.

Při provádění postupu podle tohoto příkladu se postupovalo stejným způsobem jako v příkladu 1, přičemž podle tohoto provedení bylo použito 0,13 gramu N-[4-chlorbenzyl]cinchoniniumbromidu (4-Cl-BCNB) jako katalyzátoru a postup probíhal identickým způsobem. Enantiomerní přebytek sloučeniny obecného vzorce 2a, ve kterém R představuje methylovou skupinu, činil v tomto případě 70 %, což bylo stanoveno analýzou reakční směsi metodou HPLC.

P ř í k l a d 9

Použití N-[3,4-(dichlor)benzyl]cinchoniniumbromidu jako katalyzátoru.

Při provádění postupu podle tohoto příkladu se postupovalo stejným způsobem jako v příkladu 1, přičemž podle tohoto provedení bylo použito 0,12 gramu N-[3,4-(dichlor)benzyl]cinchoniniumbromidu (3,4-Cl_2-BCNB) jako katalyzátoru a postup probíhal identickým způsobem. Enantiomerní přebytek sloučeniny obecného vzorce 2a, ve kterém R představuje methylovou skupinu, činil v tomto případě 77 %, což bylo stanoveno analýzou reakční směsi metodou HPLC.

P ř í k l a d 10

Stupeň (A) :
Použití N-[3,4-(dichlor)benzyl]cinchoniniumchloridu jako katalyzátoru.

Podle tohoto příkladu se postupovalo tak, že ke směsi obsahující 5,0 gramů (±)-5-methoxy-1,3-dimethyloxindolu a 1,92 gramu 3,4-Cl_2-BCNC (což představuje 15 molových %) ve 200 mililitrech toluenu bylo přidáno za účinného čištění prostoru, ve kterém probíhal tento postup, dusíkem 40 mililitrů 50 %-ního hydroxidu sodného NaOH. Po promíchání této směsi, které bylo prováděno po dobu 10 minut, byl přidán roztok obsahující 2,17 gramu chloracetonitrilu ve 20 mililitrech toluenu, přičemž tento přídavek byl proveden v intervalu 1 hodiny. Po dokončení reakce byla získaná reakční směs ochlazena na teplotu v rozmezí od 10 do 15 °C, načež bylo přidáno 160 mililitrů ledově chladné vody. Takto získaná směs byla zfiltrována přes celitové lože, které bylo opláchnuto 40 mililitry toluenu. Jednotlivé podíly filtrátu byly spojeny a tento spojený filtrát byl potom převeden do oddělovací nálevky, ve které vznikly dvě vrstvy, které byly odděleny. Toluenový roztok byl extrahován 100 mililitry

ochlazeného 3N roztoku kyseliny chlorovodíkové a 100 mililitry ochlazené vody. Po odpaření rozpouštědla bylo získáno 5,02 gramu (což představuje výtěžek 83 %) sloučeniny obecného vzorce 2a, ve které R představuje methylovou skupinu, ve formě světle hnědého oleje. Enantiomerní přebytek sloučeniny obecného vzorce 2a činil v tomto produktu 73 %, což bylo stanoveno metodou HPLC.

Stupeň (B) :
Katalytická redukce nitrilů na primární aminy.

Podle tohoto provedení byla nitrilová sloučenina obecného vzorce 2a, která byla připravena postupem podle stupně (A) vložena do 50 mililitrů methanolu a 7,25 mililitrů koncentrované kyseliny chlorovodíkové. Potom bylo k této reakční směsi přidáno 0,5 gramu oxidu platičitého PtO_2. Tato směs byla potom podrobena hydrogenaci, která byla prováděna po dobu 3 hodin při tlaku 310,3 kPa. Použitý katalyzátor byl potom odstraněn filtrací přes filtrační papír, který byl opláchnut 15 mililitry methanolu. Jednotlivé podíly filtrátů byly spojeny a tento spojený podíl byl zkoncentrován za sníženého tlaku, přičemž získaný zbytek byl rozpuštěn ve 100 mililitrech ledově chladné vody. Tento acidický vodný roztok byl nejprve extrahován 50 mililitry methylenchloridu a potom byl tento podíl zalkalizován přídavkem 5 mililitrů 50 %-ního hydroxidu sodného. Tento bazický vodný chloridový roztok byl potom extrahován methylenchloridem (tři podíly po 50 mililitrech). Jednotlivé extrakty byly spojeny, přičemž tento spojený podíl byl usušen (za pomoci síranu sodného Na_2SO_4) a zkoncentrován za sníženého tlaku, čímž bylo získáno 4,70 gramu (což představuje výtěžek 92 %) odpovídajícího aminu obecného vzorce 3a.

Stupeň (C) :
Postup obohacení aminu selektivním vysrážením s chirální kyselinou vinnou.

Podle tohoto postupu byla aminová sloučenina obecného vzorce 3a, získaná postupem podle shora uvedeného stupně (B), rozpuštěna ve 25 mililitrech acetonitrilu. Potom byl do této reakční směsi rychle přidán roztok obsahující 6,42 gramu dibenzoyl-D-vinné kyseliny ve 25 mililitrech acetonitrilu, což bylo provedeno pod atmosférou dusíku. Tato reakční směs byla potom promíchávána po dobu dalších 30 minut, přičemž vytvořená sraženina byla zfiltrována, čímž bylo získáno 10,38 gramu bílé pevné látky. Tato pevná látka byla potom rekrystalována ze 60 mililitrů 10 %-ní směsi vody a acetonitrilu, čímž bylo získáno 7,86 gramu (což představuje výtěžek 47,4 %) soli uvedeného aminu s kyselinou vinnou. Teplota tání tohoto produktu byla 136 - 137 °C. Zjištěná optická čistota tohoto produktu činila 99 %, což bylo stanoveno tak, že tento produkt byl převeden na derivát s (+)-kafrsulfonylchloridem, načež následovala analýza odpovídajícího sulfonamidu metodou HPLC.

P ř í k l a d 11
Použití N-[4-(trifluormethyl)benzyl]cinchonidiniumbromidu jako katalyzátoru.

Při použití tohoto katalyzátoru se získá převážně isomer, pomocí něhož se připraví (+)-fyzostigmin.

Podle tohoto příkladu se postupovalo tak, že k promíchávanému roztoku, který obsahoval 1,19 gramu 1,3-dimethyl-5-methoxyoxindolu a 0,83 gramu chloracetonitrilu v 50 mililitrech toluenu a 10 mililitrech

50 %-ního hydroxidu sodného NaOH, bylo pod atmosférou dusíku přidáno 0,53 gramu výše uvedeného katalyzátoru ve formě jednorázového přídavku. Po 30 minutách byly vzniklé vrstvy odděleny. Toluenový roztok byl potom promyt vodou, načež byl tento podíl zkoncentrován za sníženého tlaku, čímž byl získán požadovaný produkt v kvantitativním výtěžku. Enantiomerní přebytek (ee) enantiomeru obecného vzorce 2b činil v tomto případě 41 %, což bylo zjištěno následujícím způsobem. Nitrilová sloučenina byla redukována na odpovídající aminovou sloučeninu, což bylo provedeno stejným způsobem jako je uvedeno ve stupni (B) v příkladu 10, přičemž potom následovalo převedení této aminové sloučenina na derivát za pomoci (-)-menthylchlormravenčanu a HPLC analýza získaného karbamátu v koloně *Whatmann Partisil PXS 10/25*, kde jako elučního činidla bylo použito směsi 10 % acetonitril/methylenchlorid (2 ml/min; detekce při 254 nm).

P ř í k l a d 12

Použití N-[3-(trifluormethyl)benzyl]cinchoniniumbromidu jako katalyzátoru.

Při provádění postupu podle tohoto příkladu se postupovalo stejným způsobem jako v příkladu 1, přičemž podle tohoto provedení bylo použito 0,13 gramu N-[3-(trifluormethyl)benzyl]cinchoniniumbromidu (3-CF_3-BCNB) jako katalyzátoru a postup probíhal identickým způsobem. Enantiomerní přebytek sloučeniny obecného vzorce 2a činil v tomto případě 68 %, což bylo stanoveno analýzou reakční směsi metodou HPLC.

P ř í k l a d 13

Použití N-[3,4-(dichlor)benzyl]cinchoniniumchloridu jako katalyzátoru a (±)-5-ethoxy-1,3-dimethyloxindolu jako substrátu.

Při provádění postupu podle tohoto příkladu bylo ke směsi, která obsahovala 2,15 gramu (±)-5-ethoxy-1,3-dimethyloxindolu, který je rovněž označován jako 1,3-dihydro-1,3-dimethyl-5-ethoxy-2H-indol-2-on, a 0,77 gramu 3,4-Cl_2-BCNB (15 molových %) v 80 mililitrech toluenu, přidáno za účinného čištění prostoru, ve kterém byl tento postup prováděn, dusíkem přidáno 16 mililitrů 50 %-ního hydroxidu sodného NaOH. Po promíchání této směsi, které bylo prováděno po dobu 10 minut, byl přidán roztok obsahující 0,87 gramu chloracetonitrilu v 8 mililitrech toluenu, přičemž tento přídavek byl proveden v intervalu 1 hodiny. Po dokončení reakce bylo přidáno 48 mililitrů ledově chladné vody. Takto získaná směs byla zfiltrována přes celitové lože, které bylo opláchnuto 20 mililitry toluenu. Jednotlivé podíly filtrátu byly spojeny a tento spojený filtrát byl potom převeden do oddělovací nálevky, ve které vznikly dvě vrstvy, které byly odděleny. Toluenový roztok byl extrahován 20 mililitry 2 N roztoku kyseliny chlorovodíkové a potom dvakrát 20 mililitry vody. Po odpaření rozpouštědla byl získán světle hnědý olej, který byl analyzován v koloně *Daicel Chiralcel OD*, kde jako elučního činidla bylo použito směsi 10 % isopropanolu v hexanech. Enantiomerní přebytek sloučeniny obecného vzorce 2a, ve kterém R představuje ethylovou skupinu, činil v tomto produktu 71 %.

P ř í k l a d 14

Použití N-[3,4-(dichlor)benzyl]cinchoniniumchloridu jako katalyzátoru a (±)-5-benzyloxy-1,3-dimethyloxindolu jako substrátu.

Při provádění postupu podle tohoto příkladu se postupovalo stejným způsobem jako v příkladu 13, přičemž podle tohoto provedení bylo použito 2,80 gramu (±)-5-benzyloxy-1,3-dimethyloxindolu, který je rovněž označován jako 5-benzyloxy-1,3-dihydrodimethyl-2H-indol-2-on, jako substrátu a postup probíhal identickým způsobem. Enantiomerní přebytek sloučeniny obecného vzorce 2a, ve kterém R představuje benzyloxyskupinu, činil v tomto případě 73 %, což bylo stanoveno analýzou reakční směsi metodou HPLC v koloně *Daicel Chiralcel OJ*, kde jako elučního činidla bylo použito směsi 40 % isopropanolu v hexanech.

Sloučenina (±)-5-methoxy-1,3-dimethyl-oxindol, která byla použita v předchozích příkladech, je rovněž označována jako 1,3-dihydro-1,3-dimethyl-5-methoxy-2H-indol-2-on.

P ř í k l a d 15

Postup přípravy (3S)-1,3-dimethyl-5-ethoxyoxindolyl-3-acetonitrilu.

Podle tohoto provedení bylo do tříhrdlové nádoby s kulatým dnem o objemu 2 litrů, která byla opatřena mechanickým míchadlem, přívodem dusíku, teploměrem, chladičem a gumovou přepážkou (opatřenou polyethylenovou přípojkou napojenou na dávkovací stříkačku o objemu 50 mililitrů), přidáno 50 gramů 1,3-dimethyl-5-ethoxy-oxindolu, dále 2,49 gramu [N-(3,4-dichlor)benzyl]-cinchoniniumchloridu (což představuje 2 molová %) a 625

mililitrů toluenu. Potom následoval přídavek 125 mililitrů 50 %-ního roztoku hydroxidu sodného NaOH. Tímto způsobem vznikla dvojfázová směs, která byla promíchávána po dobu 15 minut. K této směsi byl potom přidán roztok, který obsahoval 20,33 gramu chloracetonitrilu (což představuje 1,1 ekvivalentu) ve 31 mililitrech toluenu, přičemž tento přídavek byl proveden dávkovací stříkačkou. Po dokončení této reakce byla tato dvojfázová směs ochlazena na teplotu asi 10 °C, načež potom bylo pomalu přidáno 500 mililitrů ledově chladné vody. Takto připravená reakční směs byla zfiltrována přes celit. Použitá reakční nádoba a celitové lože byly potom opláchnuty 300 mililitry toluenu. Vzniklé dvě fáze byly odděleny. Vodná fáze byla extrahována jednou 300 mililitry toluenu. Toluenové roztoky byly spojeny, přičemž tento spojený podíl byl extrahován dvakrát 150 mililitry 3 N roztoku kyseliny chlorovodíkové, jednou vodou (300 mililitrů) a jednou nasyceným roztokem chloridu sodného NaCl (300 mililitrů). Toluenový roztok byl potom zkoncentrován za sníženého tlaku, čímž bylo získáno 68,0 gramu (což představuje výtěžek > 100 %) 1,3-dimethyl-5-ethoxyoxindolyl-3-acetonitrilu (poměr S/R činil 87/13, zjištěno metodou chirální HPLC) ve formě pevné látky. Tento pevný zbytek byl rozpuštěn ve 177 mililitrech horkého methanolu. Čirý roztok byl potom ochlazen na teplotu místnosti a potom byl udržován při teplotě v rozmezí od 0 do 5 °C po dobu 30 až 40 minut. Vysrážená pevná látka byla zfiltrována a promyta 20 mililitry chladného methanolu a potom byla usušena na vzduchu, čímž bylo získáno 14,08 gramu (což představuje výtěžek 23,7 %) v podstatě čistého racemického 1,3-dimethyl-5-ethoxyoxindolyl-3-acetonitrilu ve formě pevné látky. Filtrát byl potom zkoncentrován, čímž bylo získáno 44,45 gramu (což představuje výtěžek 74,7 %) vysoce čistého (3S)-1,3-dimethyl-5-ethoxyoxindolyl-3-

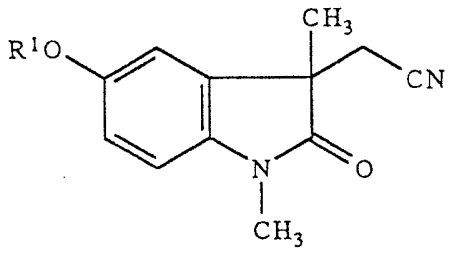
acetonitrilu (poměr S/R činil 99/1, zjištěno metodou chirální HPLC).

P ř í k l a d y 16 - 22

Při provádění postupů podle těchto příkladu se postupovalo stejným způsobem jako v příkladu 15 s tím rozdílem, že byly použity různé 5-substituované 1,3-dimethyloxindoly a současně různá rekrystalizační rozpouštědla. Výsledky těchto syntetických postupů jsou uvedeny v následující tabulce č. 2.

T A B U L K A č. 2

Rekrystalizace 1,3-dimethyl-5-alkoxyoxindolyl-3-acetonitrilu.



Příkl.	R^1	Rozpouštědlo	Zředění[a] (v/w)	Před[b] (% ee) (R nebo S)	Po[c] (% ee) (R nebo S)
16	methoxy-skupina	iPr_2O	29	70 (S)	78 (S)
17	methoxy-skupina	$^tBuOHC_3$	7	70 (S)	75 (S)
18	methoxy-skupina	95 EtOH	5	70 (S)	82 (S)
19	methoxy-skupina	MeOH	3	70 (S)	82 (S)
20	ethoxy-skupina	$^tBuOHC_3$	23	73 (S)	91 (S)

T A B U L K A č. 2 (pokračování)

Příkl.	R^1	Rozpouštědlo	Zředění[a] (v/w)	Před[b] (% ee) (R nebo S)	Po[c] (% ee) (R nebo S)
21	ethoxy-skupina	MeOH	9	73 (S)	83 (S)
22	ethoxy-skupina	MeOH	4	74 (S)	98 (S)
23	ethoxy-skupina	MeOH	9	52 (R)	95 (R)

[a] : vztaženo na teoretické množství získatelného čistého enantiomeru

[b] : % ee surového oxindolu

[c] : % ee ve filtrátu.

P ř í k l a d 24

Postup přípravy fumarátu R-eseretholu.

(A) : Postup přípravy R-eseretholu.

Tento postup byl prováděn tak, že k roztoku obsahujícímu 49,1 gramu (3R)-1,3-dimethyl-5-ethoxyoxindolyl-3-acetonitrilu (95 % ee) ve 246 mililitrech kyseliny octové bylo přidáno 2,46 gramu oxidu platičitého. Tato reakční směs byla potom hydrogenována po dobu 7 hodin, při tlaku 310,3 kPa a při teplotě místnosti. Takto získaná reakční směs byla zfiltrována a filtrát byl zkoncentrován za sníženého tlaku. Vzniklý zbytek byl potom rozdělen mezi toluen a zředěný roztok hydroxidu sodného. Toluenový roztok byl zkoncentrován, čímž bylo získáno 51,92 gramu odpovídajícího aminu.

K roztoku obsahujícímu 49,9 gramu výše uvedené aminové sloučeniny a 24,29 gramu triethylaminu v 500 mililitrech toluenu, který byl udržován na teplotě 0 °C, bylo přidáno pod atmosférou dusíku 23,87 gramu ethylesteru kyseliny chlormravenčí. Po dokončení tohoto přídavku byla získaná reakční směs promyta vodou a toluenový roztok byl usušen za pomoci bezvodého síranu sodného. Získaný filtrát byl zkoncentrován za sníženého tlaku, čímž bylo získáno 60,21 gramu odpovídajícího karbamátu.

K roztoku obsahujícímu 42,07 gramu uvedeného karbamátu ve 106 mililitrech tetrahydrofuranu, který byl udržován na teplotě 0 °C, bylo potom přidáno pod atmosférou dusíku 273 mililitrů 1 M roztoku lithiumaluminiumhydridu v tetrahydrofuranu. Po dokončení tohoto přídavku byla tato reakční směs zahřívána při teplotě varu pod zpětným

chladičem po dobu 1,5 hodiny. Po běžném zpracování produktu byl zbytek přečištěn chromatografickou metodou na silikagelu, čímž bylo získáno 17,58 gramu (R)-eseretholu (95 % ee).

(B) : Postup přípravy fumarátu (R)-eseretholu.

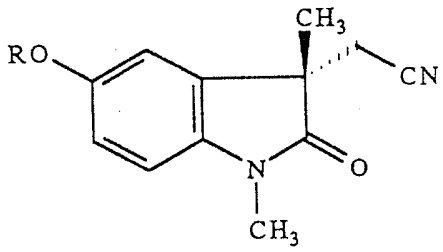
Podle tohoto provedení byl k roztoku, který obsahoval 38 gramů eseretholu (R/S v poměru 97,5/2,5) v ethanolu, přidán horký roztok, který obsahoval 21,49 gramu fumarové kyseliny v ethanolu. Takto získaná ohřátá směs byla potom ponechána ochladit na teplotu místnosti, přičemž potom byla dále ochlazena na ledové lázni. Takto vzniklá sraženina byla zfiltrována, čímž bylo získáno 47,6 gramu bílých krystalků. Tento podíl byl potom znovu rekrystalován ze 190 mililitrů methanolu, čímž bylo získáno 37,8 gramu fumarátu ve formě bílých krystalků. Analýzou tohoto produktu, která byla provedena chirální HPLC metodou, bylo zjištěno, že tato látka je 100 % opticky čistá.

Postup podle uvedeného vynálezu má řadu výhod. Tímto postupem stereoselektivní syntézy enantiomerů se získají prekurzory fyzostigminu a sloučenin podobných fyzostigminu ve vysokém chemickém výtěžku a čistotě. Dostupnost jednoho enantiomeru o dané struktuře ve značně převažujícím množství nad druhým enantiomerem umožňuje zvýšit výtěžky postupu, jestliže jsou tyto enantiomery dále štěpeny. Metoda provádění stereoselektivní syntézy podle uvedeného vynálezu nemá žádné zvláštní nevýhody. Reakční látky, které se používají k provedení tohoto postupu, jsou snadno dostupné nebo je možno je snadno připravit běžnými metodami známými z dosavadního stavu techniky. Postup podle uvedeného

vynálezu představuje praktickou a ekonomickou metodu provádění úplné syntézy vybraných enantiomerů fyzostigminu a sloučenin příbuzných fyzostigminu.

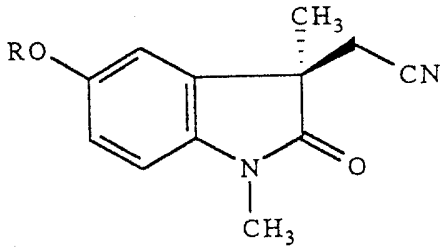
PATENTOVÉ NÁROKY

1. Způsob přípravy opticky čistého enantiomeru alkylovaného oxindolu ze skupiny zahrnující sloučeniny obecného vzorce 2a a 2b :



(2a)

nebo



(2b)

ve kterém znamená :

R substituent vybraný ze souboru zahrnujícího methylovou skupinu, ethylovou skupinu a benzylovou skupinu, ze směsi obsahující první a druhý enantiomer uvedeného oxindolu, přičemž první enantiomer je přítomen v množství větším než druhý enantiomer, **vyznačující se tím**, že tento postup zahrnuje :

(a) zpracování uvedené směsi vhodným rekrystalizačním rozpouštědlem k selektivnímu rozpuštění hlavního podílu uvedeného prvního enantiomeru za vzniku roztoku a k vytvoření sraženiny směsi obsahující přinejmenším uvedený druhý enantiomer, a

(b) oddělení uvedeného roztoku od uvedené sraženiny.

2. Způsob podle nároku 1, **vyznačující se tím**, že dále zahrnuje oddělení prvního enantiomeru z uvedeného odděleného roztoku.

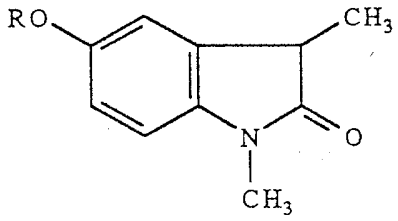
3. Způsob podle nároku 1, vyznačující se tím, že uvedené vhodné rekrystalizační rozpouštědlo se zvolí ze souboru zahrnujícího vhodná protická rozpouštědla a vhodná aprotická rozpouštědla.

4. Způsob podle nároku 3, vyznačující se tím, že uvedené protické rozpouštědlo se vybere ze souboru zahrnujícího methanol, ethanol a isopropanol.

5. Způsob podle nároku 3, vyznačující se tím, že uvedené aprotické rozpouštědlo se vybere ze souboru zahrnujícího terc.-butylmethylether a isopropylethylether.

6. Způsob stereoselektivní syntézy alkylovaného oxindolu, vyznačující se tím, že zahrnuje :

reakci racemického oxindolu obecného vzorce 1 :

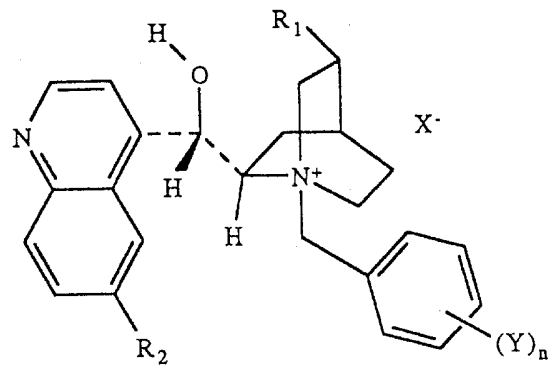


(1)

ve kterém znamená :

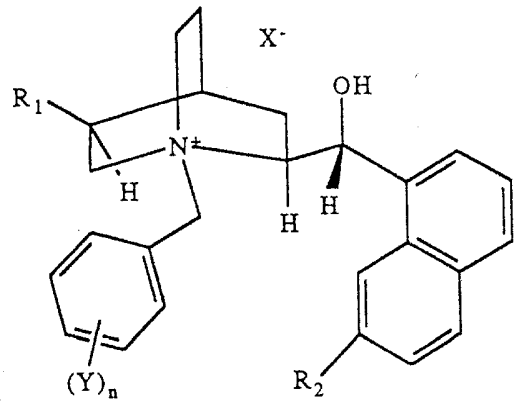
R substituent vybraný ze souboru zahrnujícího methylovou skupinu, ethylovou skupinu a benzylovou skupinu, s přinejmenším jedním ekvivalentem halogenovaného acetonitrilu vybraného ze souboru zahrnujícího chloracetonitril, bromacetonitril a jodacetonitril, ve dvoufázové reakční směsi, která má vodnou fázi obsahující silnou anorganickou bazickou látku jako deprotonační činidlo a rozpouštědlovou fázi obsahující organické rozpouštědlo

oxindolu a dále obsahuje katalytické množství substituované N-benzylcinchoniniové nebo chinidiniové sloučeniny obecného vzorce I :



(I)

nebo substituované N-benzylcinchonidiniové nebo chininiové sloučeniny obecného vzorce II :



(II)

ve kterých znamená :

R_1 vinylovou skupinu nebo ethylovou skupinu,

R_2 představuje atom vodíku nebo methoxyskupinu,

X představuje chlor nebo brom,

Y je nezávisle vybrán ze souboru zahrnujícího atom vodíku, chloru, bromu, fluoru, trifluormethylovou skupinu

a nitrilovou skupinu, a

n znamená 1, 2, 3, 4 nebo 5,

za vzniku enantiomerní směsi alkylovaného oxindolu, ve které je první enantiomer přítomen ve větším množství než druhý enantiomer, a

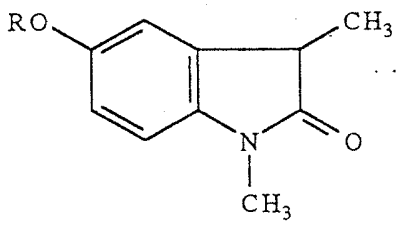
zpracování této enantiomerní směsi vhodným rekrystalizačním rozpouštědlem k oddělení uvedeného prvního enantiomeru od uvedeného druhého enantiomeru.

7. Způsob podle nároku 6, vyznačující se tím, že uvedené vhodné rekrystalizační rozpouštědlo se zvolí ze souboru zahrnujícího vhodná protická rozpouštědla a vhodná aprotická rozpouštědla.

8. Způsob podle nároku 7, vyznačující se tím, že uvedené protické rozpouštědlo se vybere ze souboru zahrnujícího methanol, ethanol a isopropanol a uvedené aprotické rozpouštědlo se vybere ze souboru zahrnujícího terc.-butylmethylether a isopropylethylether.

9. Způsob stereoselektivní syntézy alkylovaného oxindolu, vyznačující se tím, že zahrnuje :

reakci racemického oxindolu obecného vzorce 1 :

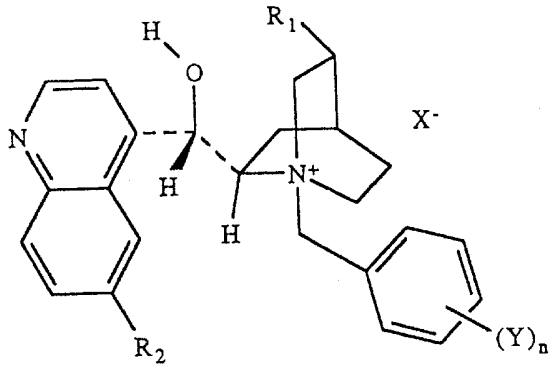


(1)

ve kterém znamená :

R substituent vybraný ze souboru zahrnujícího

methylovou skupinu, ethylovou skupinu a benzylovou skupinu, s přinejmenším jedním ekvivalentem chloracetonitrilu ve dvoufázové reakční směsi, která má vodnou fázi obsahující silnou anorganickou bazickou látku jako deprotonační činidlo a rozpouštědlovou fázi obsahující organické rozpouštědlo oxindolu a dále obsahuje katalytické množství substituované N-benzylcinchoniniové nebo chinidiniové sloučeniny obecného vzorce I :



(I)

ve kterém znamená :

R_1 vinylovou skupinu nebo ethylovou skupinu,

R_2 představuje atom vodíku nebo methoxyskupinu,

X představuje chlor nebo brom,

Y je nezávisle vybrán ze souboru zahrnujícího atom vodíku, chloru, bromu, fluoru, trifluormethylovou skupinu a nitrilovou skupinu, a

n znamená 1, 2, 3, 4 nebo 5,

za vzniku enantiomerní směsi alkylovaného oxindolu, ve které je první enantiomer přítomen ve větším množství než druhý enantiomer, a

zpracování této enantiomerní směsi vhodným rekrystalizačním rozpouštědlem k oddělení uvedeného prvního enantiomeru od uvedeného druhého enantiomeru.

10. Způsob podle nároku 9, vyznačující se tím, že uvedené vhodné rekrystalizační rozpouštědlo se zvolí ze souboru zahrnujícího vhodná protická rozpouštědla a vhodná aprotická rozpouštědla.

11. Způsob podle nároku 10, vyznačující se tím, že uvedené protické rozpouštědlo se vybere ze souboru zahrnujícího methanol, ethanol a isopropanol a uvedené aprotické rozpouštědlo se vybere ze souboru zahrnujícího terc.-butylmethylether a isopropylethylether.

Zastupuje :
Dr. Miloš Všetečka