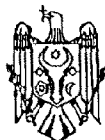




MD 4467 C1 2017.09.30

REPUBLICA MOLDOVA

(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 4467 (13) C1

(51) Int.Cl: C07C 13/44 (2006.01)
C07C 43/275 (2006.01)
C07C 39/14 (2006.01)
C07C 39/17 (2006.01)
C07C 209/26 (2006.01)
C07C 211/11 (2006.01)
C07C 217/56 (2006.01)
C07D 223/16 (2006.01)
C07B 53/00 (2006.01)
C07B 57/00 (2006.01)
C12N 9/18 (2006.01)
C12N 9/20 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

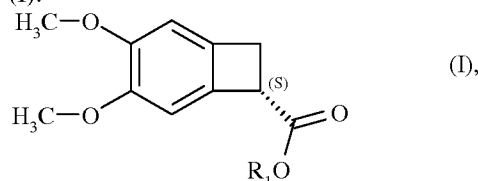
<p>(21) Nr. depozit: a 2013 0008 (22) Data depozit: 2013.02.07</p> <p>(31) Nr.: 12/51195 (32) Data: 2012.02.09 (33) Țara: FR (41) Data publicării cererii: 2013.07.31, BOPI nr. 7/2013</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2017.02.28, BOPI nr. 2/2017</p>
<p>(71) Solicitant: LES LABORATOIRES SERVIER, FR (72) Inventatori: PEDRAGOSA MOREAU Sandrine, FR; LEFOULON Francois, FR (73) Titular: LES LABORATOIRES SERVIER, FR (74) Mandatar autorizat: SIMANENKOVA Tatiana</p>	

(54) Procedeu de sinteză enzimatică a acidului (7S)-3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilic sau a esterilor săi și aplicarea lor în sinteza ivabradinei și a sărurilor sale

(57) Rezumat:

1

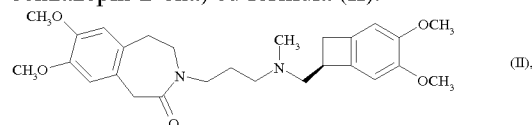
Prezenta invenție se referă la un procedeu de sinteză enzimatică a compusului cu formula (I):



unde R₁ reprezintă un atom de hidrogen sau o grupă alchil C₁-C₆, de preferință metil, precum și la aplicarea acestuia în sinteza ivabradinei

2

(3-{3-[[[(7S)-3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-il]metil](metil)amino]propil}-7,8-dimetoxi-1,3,4,5-tetrahidro-2H-3-benzazepin-2-ona) cu formula (II):



a sărurilor sale de adiție cu acizi farmaceutici acceptabili și a hidraților acestora.

Utilizarea lipazelor *Pseudomonas fluorescens* și *Candida antarctica* permite

MD 4467 C1 2017.09.30

obținerea compușilor chirali – principalii intermediari în sinteza ingredientelor

farmaceutic active – în excese enantiomerice înalte și randamente bune.

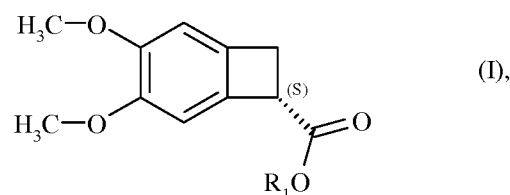
Revendicări: 22

Figuri: 2

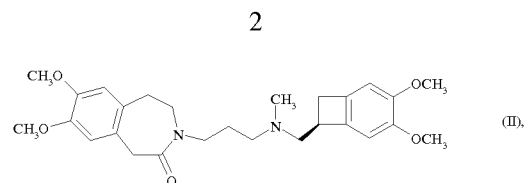
(54) Process for the enzymatic synthesis of (7S)-3,4-dimethoxybicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene-7-carboxylic acid or esters thereof, and application in the synthesis of ivabradine and salts thereof

(57) Abstract:

The present invention relates to a process for the enzymatic synthesis of the compound of formula (I):



wherein R_1 represents a hydrogen atom or a C_1 - C_6 alkyl group, preferably methyl, and also to its application in the synthesis of ivabradine (3-{3-[[[(7S)-3,4-dimethoxybicyclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene-7-yl]methyl] (methyl)amino]propyl}-7,8-dimethoxy-1,3,4,5-tetrahydro-2H-3-benzazepin-2-one) of formula (II):



its addition salts with pharmaceutically acceptable acids and their hydrates.

The use of lipases *Pseudomonas fluorescens* and *Candida antarctica* makes it possible to obtain chiral compounds – key intermediates in the synthesis of pharmaceutically active ingredients – in high enantiomeric excesses and good yields.

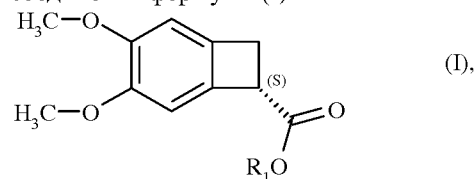
Claims: 22

Fig.: 2

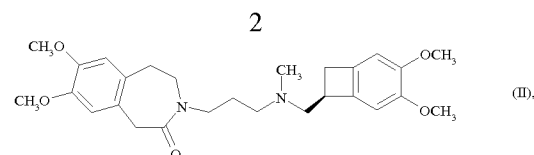
(54) Способ ферментативного синтеза (7S)-3,4-диметоксибицикло[4.2.0]окта-1,3,5-триен-7-карбоновой кислоты или ее сложных эфиров и их применение в синтезе ивабрадина и его солей

(57) Реферат:

Настоящее изобретение относится к способу ферментативного синтеза соединения формулы (I):



где R_1 представляет собой атом водорода или алкильную группу C_1 - C_6 , предпочтительно метил, а также к его применению в синтезе ивабрадина (3-{3-[[[(7S)-3,4-диметоксибицикло[4.2.0]окта-1,3,5-триен-7-ил]метил] (метил)амино]-пропил}-7,8-диметокси-1,3,4,5-тетрагидро-2H-3-бензазепин-2-он) формулы (II):



его аддитивных солей с фармацевтически приемлемыми кислотами и их гидратов.

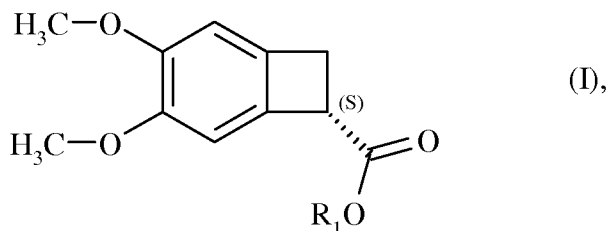
Использование липаз *Pseudomonas fluorescens* и *Candida antarctica* позволяет получить хиральные соединения – главные промежуточные химические соединения в синтезе фармацевтически активных ингредиентов – с высокими энантиомерными избытками и с хорошими выходами.

П. формулы: 22

Фиг.: 2

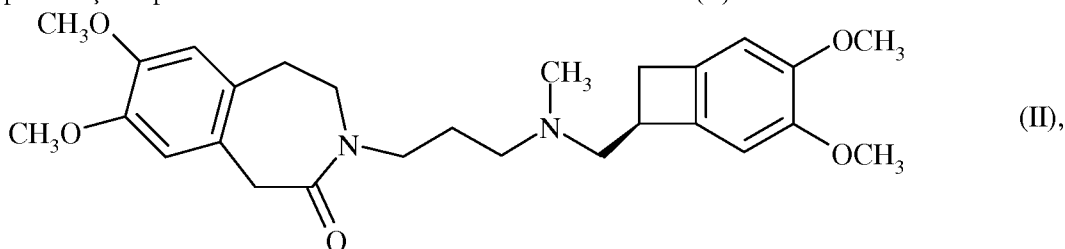
Descriere:

Prezenta invenție se referă la un procedeu de sinteză enzimatică a compusului cu formula (I):



5

unde R₁ reprezintă un atom de hidrogen sau o grupă alchil C₁-C₆, de preferință metil, precum și la aplicarea acestuia în sinteza ivabradinei cu formula (II):

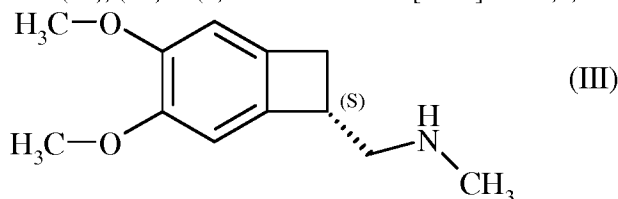


10 sau 3-{3-[[[(7S)-3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-il]metil}(metil)amino]propil}-7,8-dimetoxi-1,3,4,5-tetrahidro-2H-3-benzazepină-2-onă, a sărurilor sale de adiție cu un acid acceptabil farmaceutic, și a hidraților acestora.

15 Ivabradina, precum și sărurile sale de adiție cu un acid acceptabil farmaceutic, și îndeosebi clorhidratul său, posedă proprietăți farmacologice și terapeutice foarte valoroase, în special proprietăți bradicardice, ceea ce face ca acești compuși să fie utili în tratamentul sau prevenirea diverselor situații clinice de ischemie miocardică cum este angina pectorală, infarctul miocardic și tulburările asociate ale ritmului, precum și în diverse patologii ce se referă la tulburări ale ritmului, în special supraventriculare, și în cazuri de insuficiență cardiacă.

20 Prepararea și utilizarea terapeutică a ivabradinei și a sărurilor sale de adiție cu un acid acceptabil farmaceutic, și îndeosebi a clorhidratului său, au fost descrise în brevetul european EP 0 534 859.

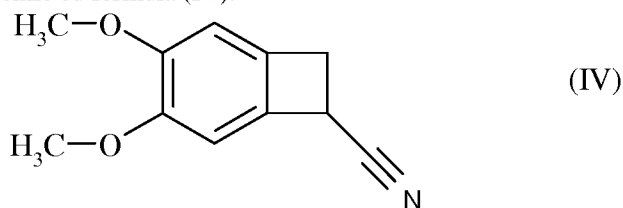
Brevetul respectiv descrie sinteza clorhidratului de ivabradină pornind de la compusul cu formula (III), (7S)-1-(3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-il) N-metil metanamină:



25 Compusul cu formula (III) este un intermediar esențial în sinteza ivabradinei și a sărurilor sale acceptabile farmaceutic.

Stadiul cunoscut al tehnicii prezintă mai multe procedee de obținere a compusului cu formula (III).

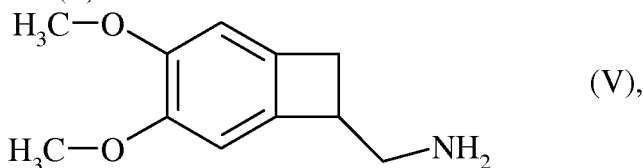
Brevetul EP 0 534 859 descrie sinteza compusului cu formula (III) prin reducerea nitrilului racemic cu formula (IV):



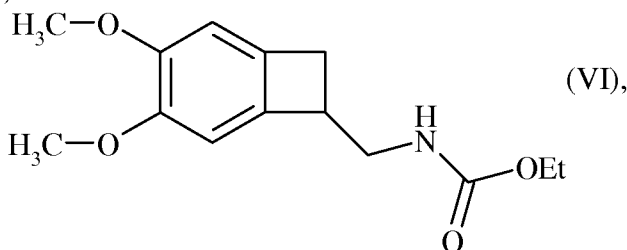
30

prin BH₃ în tetrahidrofuran,

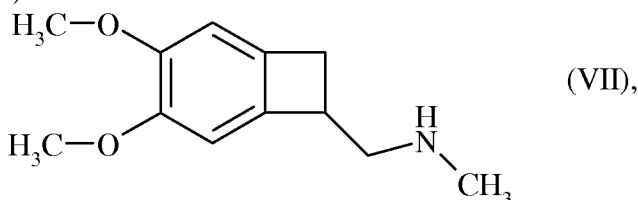
urmată de adăugarea acidului clorhidric, pentru a obține clorhidratul de amină racemică cu formula (V):



5 care este supus reacției cu cloroformiatul de etil pentru a obține carbamatul cu formula (VI):



reducerea căruia, prin LiAlH_4 , conduce la obținerea aminei metilate racemice cu formula (VII):

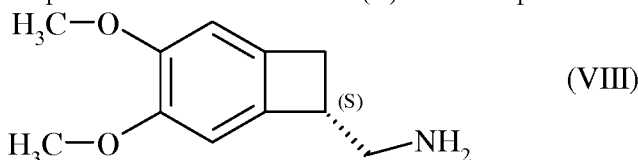


10 descompunerea căreia cu ajutorul acidului camforsulfonic conduce la obținerea compusului cu formula (III).

Dezavantajul acestei metode constă în faptul că duce la obținerea compusului cu formula (III) într-un randament foarte redus, de 2-3 %, pornind de la nitrilul racemic cu formula (IV).

15 Acest randament foarte redus este determinat de randamentul redus (4-5%) al etapei de descompunere a aminei secundare cu formula (VII).

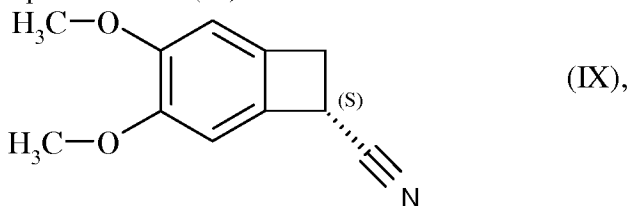
Brevetul EP 1 598 333 descrie obținerea compusului cu formula (III) prin descompunerea aminei primare racemice cu formula (V) în amina optic activă cu formula (VIII):



20 cu ajutorul acidului N-acetil-L-glutamic, urmată de metilare prin utilizarea aceleiași succesiuni de reacții descrisă mai sus (transformarea în carbamat, urmată de reducere).

Randamentul etapei de descompunere este de 39%.

25 Brevetul EP 2 166 004 descrie obținerea compusului cu formula (III) prin descompunerea optică a nitrilului racemic cu formula (IV) prin cromatografie chirală pentru a obține nitrilul optic pur cu formula (IX):



care este redus prin NaBH_4 pentru a obține amina primară cu formula (VIII), care ulterior este metilată prin utilizarea aceleiași succesiuni de reacții descrisă mai sus (transformarea în carbamat, urmată de reducere).

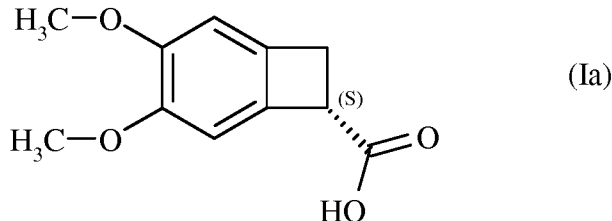
30 Randamentul etapei de descompunere este de 45 %.

Problema prezentei invenții a fost de a obține compusul cu formula (III) utilizând un procedeu eficient, în special cu un randament bun, îndeosebi la etapa de descompunere.

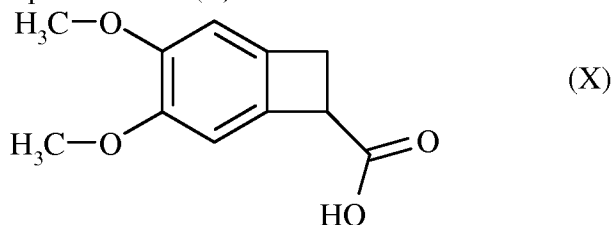
Utilizarea biocatalizei pentru a permite obținerea moleculelor chirale pare să fie tot mai valoroasă ca alternativă pentru sinteza organică tradițională. De fapt, utilizarea enzimelor cu proprietăți naturale intrinseci, cum ar fi chimio-, regio- și stereo-selectivitatea, permite

utilizarea enzimelor ca reactivi în chimia verde, care este prietenoasă cu mediul înconjurător. În cazul descris în prezenta, utilizarea enzimelor hidrolitice (hidrolaze), care funcționează fără co-factori, cum sunt lipazele (EC 3.1.1.3 în clasificatorul internațional al enzimelor) sau esterazele (EC 3.1.1.1), permite obținerea compușilor chirali – principalii intermediari în sinteza ingredientelor farmaceutice active – în excese enantiomerice înalte și randamente bune.

Mai exact, prezenta invenție se referă la un procedeu de sinteză a compusului optic pur cu formula (Ia):



prin esterificarea enzimatică enantioselectivă a acidului racemic sau a unui alt acid non optic pur cu formula (X):



cu ajutorul unei lipaze de *Candida antarctica* și *Pseudomonas fluorescens*, într-un amestec de alcool ROH, unde R este o grupă alchil C₁-C₆ liniară sau ramificată, și un co-solvent organic,

într-o concentrație cuprinsă între 5 și 500 g/L, preferabil între 100 g și 200 g de compus cu formula (X) la un litru de amestec de solvenți,

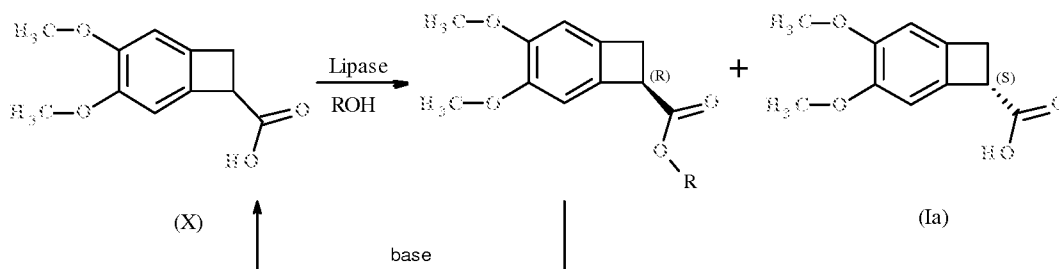
într-un raport E/S de la 10/1 la 1/100, preferabil de la 1/5 la 1/10,

la o temperatură cuprinsă între 25°C și 40°C.

Printre lipazele de *Candida antarctica* pot fi menționate, de exemplu, lipazele imobilizate pe o matrice polimerică, în special pe rășină acrilică, cum este Novozym® 435 de la compania Novozymes sau SPRIN adsorbed CALB® de la compania Sprin Technologies, sau pe o rășină din polistiren, cum sunt SPRIN actiplus CALB®, SPRIN acti CALB® or SPRIN lipo CALB® de la compania Sprin Technologies, sau pe o rășină epoxy acrilică, cum este SPRIN epobond CALB® de la compania Sprin Technologies.

Alcoolul ROH este, de preferință, metanol sau etanol. Co-solvenții sunt, de preferință, acetonitril, toluen, MTBE sau n-heptan. Raportul preferat co-solvent/alcool este de la 8/2 la 9/1.

Schema de esterificare enzimatică conform invenției este următoarea:



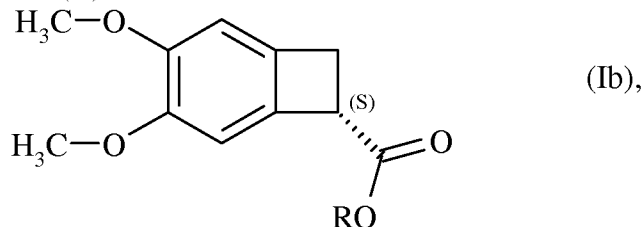
În mod avantajos, esterul cu configurația (R), produsul secundar al reacției, poate fi hidrolizat prin acțiunea unei baze, preferabil KOH, DBU, trietilamină, DABCO, TBD, etoxid

de sodiu, metoxid de sodiu sau K_2CO_3 , pentru a forma acid racemic cu formula (X) pentru a fi reciclat în procesul de esterificare enzimatică.

Dacă etapa de hidroliză/racemizare este realizată *in situ*, procedeul conform invenției este un proces de descompunere cinetică dinamică (DKR), care face posibilă obținerea acidului S cu formula (Ia) într-un ee $\geq 98\%$ și un randament $\geq 65\%$.

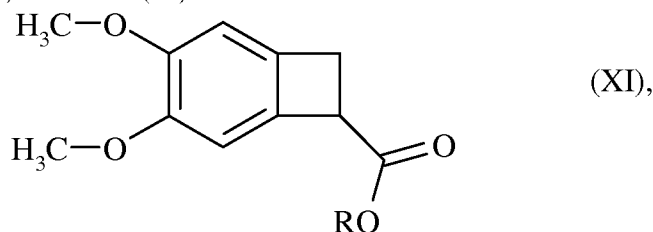
Acidul cu formula (Ia) este, de preferință, izolat de amestecul reacției după unul sau câteva cicluri de esterificare enzimatică.

Un alt aspect al invenției se referă la procedeul de sinteză a compusului optic pur cu formula (Ib):



10

unde R este o grupă alchil C_1-C_6 liniară sau ramificată, preferabil metil sau etil, prin hidroliza enzimatică enantioselectivă a esterului racemic sau a unui alt ester non optic pur, cu formula (XI):



15

unde R reprezintă o grupă alchil C_1-C_6 liniară sau ramificată,

prin utilizarea unei lipaze de *Candida antarctica* și de *Pseudomonas fluorescens*, în apă, într-o soluție tampon cu pH=5 până la 8 sau într-un amestec de solvent organic și apă sau soluție tampon cu pH=5 până la 8, într-o concentrație de la 1 la 200 g/L, preferabil în jur de 100 g de compus cu formula (XI) la un litru de solvent sau amestec de solvenți,

20

într-un raport E/S de la 10/1 până la 1/100, preferabil de la 1/5 până la 1/10,

la o temperatură cuprinsă între 25°C și 40°C,

urmată de izolarea esterului cu formula (Ib).

Printre lipazele de *Candida antarctica* pot fi menționate, în calitate de exemplu, lipazele imobilizate pe o matrice polimerică, în special pe rășină acrilică, cum sunt Novozym® 435 de la compania Novozymes sau SPRIN adsorbed CALB® de la compania Sprin Technologies, sau pe o rășină de polistiren, cum sunt SPRIN actiplus CALB®, SPRIN acti CALB® sau SPRIN lipo CALB® de la compania Sprin Technologies, sau o rășină epoxy acrilică, cum este SPRIN epobond CALB® de la compania Sprin Technologies.

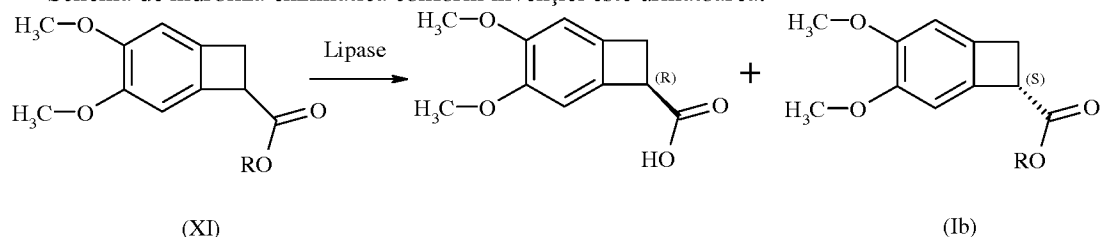
25

Dacă reacția este realizată în prezența unui solvent organic, acesta din urmă va fi, de preferință, acetonitril, toluen, MTBE sau n-heptane.

30

Raportul preferat – solvent organic/ apă sau soluție tampon variază de la 8/2 la 9/1.

Schema de hidroliză enzimatică conform invenției este următoarea:



35

În mod avantajos, acidul cu configurație (R), produsul secundar al reacției, poate fi racemizat prin acțiunea unei baze, preferabil prin acțiunea KOH la cald, după care acidul

racemic obținut astfel poate fi alchilat în ester racemic cu formula (XI), pentru a fi reciclat în procesul de hidroliză enzimatică.

Alternativ, acidul cu configurația (R), produsul secundar al reacției, poate fi mai întâi alchilat și ulterior esterul cu configurația (R) obținut astfel poate fi racemizat prin acțiunea unei baze, preferabil prin acțiunea DBU, KOH, trietilamin, DABCO, TBD, etoxid de sodiu, metoxid de sodiu sau K_2CO_3 , pentru a fi reciclat în procesul de hidroliză enzimatică.

Dacă racemizarea este realizată la cald, temperatura este cuprinsă, de preferință, între 50 și 80°C.

10 **Definiții**

Compus optic pur înseamnă un compus al cărui exces enantiomeric este mai mare sau egal cu 90%.

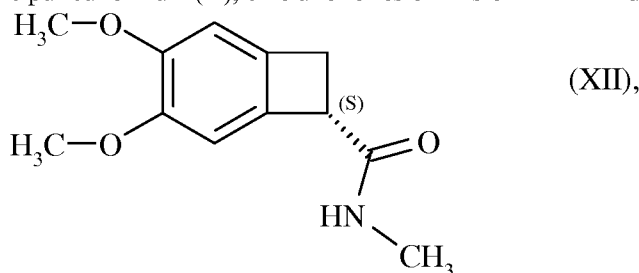
Acid sau ester care nu este pur din punct de vedere optic înseamnă un acid sau ester al cărui exces enantiomeric este mai mic de 90%.

15 Acid sau ester racemic înseamnă un acid sau ester în formă de amestec din doi enantiomeri în raport de la 55:45 până la 45:55.

Esterificarea enantioselectivă a unui acid racemic sau a unui alt acid non optic pur înseamnă esterificarea preferențială a unuia dintre enantiomerii amestecului.

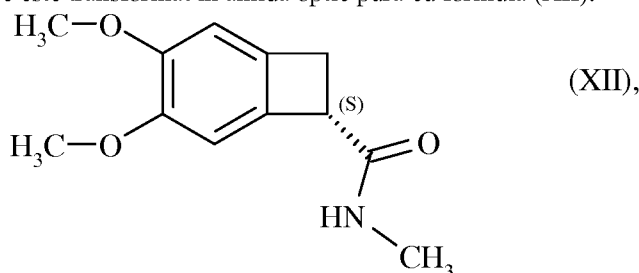
20 Hidroliza enantioselectivă a unui ester racemic sau a unui alt ester non optic pur înseamnă hidroliza preferențială a unuia dintre enantiomerii amestecului.

Un alt aspect al invenției se referă la un procedeu de sinteză a compusului cu formula (III) pornind de la nitrilul cu formula (IV), care este hidrolizat pentru a forma acidul racemic cu formula (X), esterificarea enzimatică a căruia, conform invenției, duce la obținerea acidului optic pur cu formula (Ia), care ulterior este transformat în amida optic pură cu formula (XII):



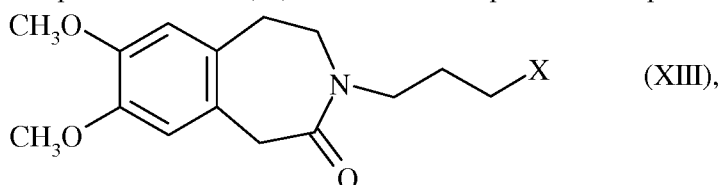
25 a cărei reducere, preferabil prin BH_3 , $NaBH_4$ sau $LiAlH_4$, duce la obținerea compusului cu formula (III).

30 Un alt aspect al invenției se referă la un procedeu de sinteză a compusului cu formula (III) pornind de la nitrilul cu formula (IV), care este hidrolizat pentru a forma acidul racemic cu formula (X), iar apoi este alchilat pentru a forma esterul racemic cu formula (XI), a cărui hidroliză enzimatică, conform invenției, duce la obținerea esterului optic pur cu formula (Ib), care este transformat în amida optic pură cu formula (XII):

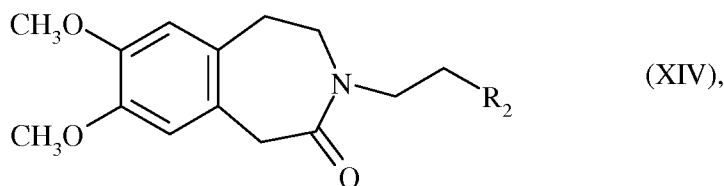


35 a cărei reducere, preferabil prin BH_3 , $NaBH_4$ sau $LiAlH_4$, duce la obținerea compusului cu formula (III).

Compusul cu formula (III) este ulterior fie cuplat cu un compus cu formula (XIII):



unde X reprezintă un atom de halogen, preferabil un atom de iod,
fie supus unei reacții de aminare reductivă cu un compus cu formula (XIV) în prezența unui agent reductor:



5 unde R_2 reprezintă o grupă selectată dintre CHO și CHR_3R_4 ,
unde R_3 și R_4 reprezintă fiecare o grupă alcoxi (C_1 - C_6) liniară sau ramificată, sau formează împreună cu atomul de carbon care le poartă, un ciclu 1,3-dioxan, 1,3-dioxolan sau 1,3-dioxepan, pentru a obține ivabradină, care este ulterior transformată într-o sare de adiție cu un acid acceptabil farmaceutic, sarea respectivă fiind în formă anhidră sau de hidrat.

10 Compusul cu formula (III) poate fi utilizat, de asemenea, în reacția de aminare reductivă, sub forma sării sale de adiție cu un acid acceptabil farmaceutic, de preferință clorhidratul său. În acest caz, ivabradina este obținută direct în formă de clorhidrat.

15 Printre acizii acceptabili farmaceutic pot fi menționați, fără a se limita la aceștia, acizii clorhidric, bromhidric, sulfuric, fosforic, acetic, trifluoroacetic, lactic, piruvic, malonic, succinic, glutaric, fumaric, tartaric, maleic, citric, ascorbic, oxalic, metan-sulfonic, benzensulfonic și camforic.

20 Printre agenții reductori care pot fi utilizați pentru reacția de aminare reductivă între compusul cu formula (III) și compusul cu formula (XIV) pot fi menționați, fără a se limita la aceștia, compușii donori de hidură, cum sunt triacetoxiborohidru de sodiu sau cianoborohidru de sodiu și hidrogenul în prezența unui catalizator cum este paladiul, platina, nichelul, ruteniul, rodiul sau a unui compus al acestora, în special pe un suport sau sub formă de oxizi.

25 Agentul reductor preferat pentru reacția de aminare reductivă între compusul cu formula (III) și compusul cu formula (XIV) este dihidrogenul catalizat cu paladiu pe carbon.

Exemplele de mai jos ilustrează invenția.

Abrevieri

ATFA	Acid TriFluoroAcetic
CSS	Cromatografie în Strat Subțire
30 DABCO	1,4-DiAzaBiCiclo[2.2.2]Octan
DBU	DiazaBicicloUndecenă
DKR	Dynamic Kinetic Resolution (Descompunere cinetică dinamică)
E	Coeficientul de enantioselectivitate
ee	exces enantiomeric
35 eq	echivalent molar
HPLC	High Performance Liquid Chromatography (Cromatografie în fază lichidă de înaltă performanță)
MeOH	Metanol
MTBE	Metil Tert-Butil Eter
40 po	puritate optică sau enantiomerică
raportul E/S	raportul Enzime/Substrat (g/g)
RMN	Rezonanță magnetică nucleară (spectroscopie)
SM	Spectrometrie de masă
TBD	1,5,7-TriazaBiciclo-[4.4.0]Dec-5-enă
45 THF	TetraHidroFuran
TMS	TetraMetilSilan

EXEMPLUL 1: Acid 3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilic

50 Se suspendă 3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carbonitril (11 g, 58,1 mmol) într-o soluție de hidroxid de sodiu 1N (70 mL) și se încălzește amestecul reacției la reflux (110°C) timp de 2 ore.

Se lasă să revină la temperatura mediului ambiant și apoi se acidifică amestecul cu acid clorhidric concentrat. Se observă precipitarea.

Se dizolvă produsul în 200 mL de diclorometan și apoi se extrage faza apoasă. Se usucă pe MgSO₄ și se evaporă pentru a obține produsul din titlu (11,6 g) la un randament de 95,9 %.

EXEMPLUL 2: (7S)- Acid 3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilic

5 0,5 g (c = 200 g/L) de acid racemic obținut în Exemplul 1 este dizolvat în 2,5 mL de amestec de acetonitril/metanol în proporție de 8/2.

Ulterior 0,1 g (c = 40 g/L) de lipază de *Candida antarctica* NOVOZYM 435® (Novozymes Denmark) se adaugă la amestec (raport E/S - 1/5). Amestecul reacției este menținut la temperatura de 30°C, agitându-se rotativ la 220 rpm, timp de 48 ore.

10 Reacția este controlată prin faza chirală HPLC, în condiții care permit determinarea exceselor enantiomerice ale esterului și ale acidului:

coloana Chiralpak® IC 250 4,6*

30 % etanol absolut + 0,1 % ATFA + 70 % heptan + 0,1 % ATFA

1ml/min, 25°C, 288 nm

15

	% acid	% ester	Ee (%) Acid (S)	Ee (%) Ester (R)	E
18 ore	59	41	66	> 99	77
24 ore	55	45	78	> 99	100
48 ore	51	49	97	> 98	890

Cromatogramele HPLC în faza chirală ale compușilor racemici și ale produsului după 48 de ore sunt prezentate în Figurile 1 și 2.

20 După 48 de ore se observă prezența esterului și a acidului optic puri într-un raport optim acid/ester de aproximativ 50/50. Amestecul reacției este filtrat, enzima este spălată cu 5 mL de metanol, după care filtratul este evaporat în vid. Acidul S și esterul R optic puri sunt separați prin cromatografie pe o coloană de silice (eluant: diclorometan/metanol 98/1).

Acid (S): 0,22 g (44%); puritate optică > 96%; $[\alpha]_D^{20}$ la 589nm: +57,1° (5 mg/ml în MeOH)

Ester (R): 0,24 g; puritate optică > 96%; $[\alpha]_D^{20}$ la 589nm: -62,7° (5 mg/ml în MeOH)

25 Randament global (S + R): 92%.

EXEMPLUL 3: 3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilat de metil

Se suspendă (7R)-3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilatul de metil (445 mg) (ee > 96%) în izopropanol (2,5 mL) și se adaugă diazabicicoundecenă (58 μl – 1,5 eq).

30 Amestecul reacției se încălzește la temperatura de 65°C timp de 2 ore. Racemizarea completă se observă după două ore de reacție a esterului.

Condițiile analizei:

coloana Chiralpak® IC 250 4,6*

30% etanol absolut + 0,1% ATFA + 70% heptan + 0,1% ATFA

35 *1ml/min, 25°C, 288 nm*

EXEMPLUL 4: Acid 3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilic

Se suspendă (7R)-3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilat de metil (50 mg) (ee > 96%) în metanol (1 mL) și se adaugă hidroxid de potasiu (56,1) (25 mg – 2 eq).

40 Se încălzește amestecul reacției la temperatura de 65°C timp de 6 ore. Se observă hidroliza esterului în acid racemic.

Condițiile analizei:

coloana Chiralpak® IC 250 4,6*

30% etanol absolut + 0,1% ATFA + 70% heptan + 0,1% ATFA

45 *1ml/min, 25°C, 288 nm*

EXEMPLUL 5: (7S)-Acid 3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilic

2 g (c = 200 g/L) de acid racemic 3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilic se dizolvă în 20 ml de amestec de acetonitril/metanol (9/1).

50 Apoi la amestec se adaugă 0,4 g (c = 20 g/L) de lipază de *Candida antarctica* SPRIN actiplus CALB® (Sprin Technologies). Amestecul reacției se păstrează la temperatura de 30°C, agitându-se rotativ la 220 rpm timp de 24 ore. Enzima este filtrată și apoi spălată cu

metanol. Ulterior la amestec (filtrat) se adaugă 0,5 g de KOH (2 eq) și se continuă agitarea timp de 6 ore la temperatura de 30°C. Ulterior amestecul este evaporat in vid. Aceasta permite racemizarea completă și hidroliza esterului *R* fără racemizarea acidului *S*. Reziduul este extras cu acetat de etil și apoi spălat cu soluție de acid citric de 10%. Extracția cu acetat de etil nefiind

5

suficientă, acidul hidrosolubil este re-extras cu soluție de butan-1-ol. Extractele sunt uscate pe MgSO₄ pentru a obține, după evaporare, 1,9 g de acid în raport de 75:25 (*S*:*R*). Acest acid

îmbogățit enantiomeric este utilizat într-o a doua reacție enzimatică în prezența a 0,2 g de lipază. După 24 de ore la temperatura de 30°C, enzima este filtrată și apoi spălată cu metanol.

10

După evaporare, reziduul este cromatografiat pe o coloană de silice (eluant CH₂Cl₂/MeOH

de la 99/1 la 99/2) pentru a obține următoarele produse:

Acid (*S*): 1,33 g; po > 96 %; randamentul acidului (teoretic 75%): 67 %

Ester (*R*): 0,42 g; po > 96 %; randamentul esterului (teoretic 25%): 21%

Randamentul global al reacției este ~88 %.

15

Descrierea RMN și SM a acidului

¹H RMN (DMSO-d₆, ppm / TMS): 3,17 (dd; 1H; 13,6Hz; 2,4Hz); 3,27 (dd; 1H; 13,6Hz; 5,3Hz); 4,13 (dd; 1H); 3,71 (s;3H); 6,78 (s; 1H); 6,80 (s; 1H); 12,40 (s; 1H).

SM (EI+) Ion molecular M+ la m/z 208.

20

Descrierea RMN și SM a esterului

¹H RMN (DMSO-d₆, ppm / TMS) = 3,19 (dd; 1H; 13,6Hz; 2,4 Hz); 3,33 (dd; 1H; 13,6Hz; 5,5Hz); 3,65 (s; 3H); 3,71 (s; 6H); 4,23 (dd; 1H); 6,79 (s; 1H); 6,82 (s;1H).

SM (EI+) Ion molecular M+ la m/z 222.

25

Succesiunea reacțiilor este controlată prin HPLC în faza chirală, în condiții ce permit determinarea excesului enantiomeric atât al esterului cât și al acidului:

coloana Chiralpak® IC 250 4,6*

30% etanol absolut + 0,1% TFA + 70% heptan + 0,1% TFA

1ml/min, 25°C, 288nm

30

EXEMPLUL 6: 3,4-Dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilat de metil

Se dizolvă acidul 3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilic (3 g – 14,4 mmol) în metanol și se adaugă clorură de acetil (1,65 g – 21,1 mmol).

35

Se încălzește la reflux amestecul reacției timp de 2 ore. Analiza prin CSS (eluant: diclorometan) indică absența materialului inițial al acidului racemic.

Se evaporă amestecul reacției, se extrage reziduul în acetat de etil și se spală faza organică cu NaHCO₃. Se evaporă până la uscare, și se usucă pentru la obținerea produsului din titlu într-un randament de 97 %.

40

EXEMPLUL 7: (7S)-3,4-Dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilat de metil

2 g (c = 100 g/L) de metil racemic 3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilat se dizolvă în 20 mL de amestec de 80/20 de acetonitril/tampon pH=7.

45

Apoi la amestec se adaugă 0,4 g (c = 20 g/L) de lipază de *Candida antarctica* NOVOZYM 435® (Novozymes Denmark) (raportul E/S - 1/5). Amestecul reacției se menține la temperatura de 30°C, agitandu-se rotativ la 230 rpm.

După 4 ore de reacție (pH=5,8), pH-ul este ajustat la 7,2. După 24 ore, enzima este filtrată și spălată prin agitare în metanol. Toți filtrații se colectează, se evaporază și se liofilizează.

50

Liofilizatul este extras în acetat de etil, se agită timp de o noapte, după care amestecul reacției este filtrat iar filtratul este evaporat.

Reziduul este purificat pe o coloană de silice (eluant diclorometan/metanol) pentru a obține 0,81 g de ester din titlu (7*S*), adică într-un randament de 41 %.

[α]_D²⁰ la 589nm: +64,7° (5 mg/ml in MeOH)

55

Fracțiunea care conține acidul este extras în acetat de etil pentru a obține 0,72 g de acid (7*R*), adică într-un randament de 36 % .

[α]_D²⁰ la 589nm: -58.8° (5 mg/ml in MeOH)

EXEMPLUL 8: (7S) -3,4-Dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilat de metil

3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilat de metil racemic (1 mg; c = 1 g/L) se dizolvă în 1 mL de amestec de tampon fosfat pH=7/toluen în raport de 90/10.

5 Apoi la amestec se adaugă 5 mg (c = 5 g/L) de lipază din *Pseudomonas fluorescens* (raportul E/S - 5/1). Amestecul reacției se menține la o temperatură de 28°C, cu agitare rotativă la 220 rpm timp de 48 ore.

Amestecul reacției este analizat prin HPLC în fază inversă, iar enantioselectivitatea (ee) esterului rezidual este controlat prin HPLC în fază chirală, în conformitate cu metodele

10 descrise mai jos:

Condițiile de analiză a amestecului de reacție prin HPLC în fază inversă:

*Kinetex® 2,6μm C18 50*2,1, 40°C, 0,6ml/min 100 % A la 100 % B timp de 5 minute.*

A (1000 apă+25 ACN+1 ATFA)

B (1000 ACN+25 apă+1 ATFA)

15 *Condițiile de analiză a enantioselectivității prin HPLC în fază chirală:*

coloana Chiralpak® IC 250 4.6, 100% etanol absolut, 1ml/min, 25°C, 288nm*

<i>Enantiomer</i>	<i>Timp de retenție (min)</i>
<i>(7R)</i>	<i>7,19</i>
<i>(7S)</i>	<i>9,03</i>

20

Analiza amestecului reacției arată o activitate hidrolitică bună (procentajul de ester rezidual: 25%).

Analiza enantioselectivității indică un ee de 90% pentru esterul (7S).

25

EXEMPLUL 9: Acid 3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilic

Se suspendă acidul (7R)-3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilic (50 mg - ee > 95%) în metanol (1 mL) și se adaugă hidroxid de potasiu (20 mg).

Amestecul reacției se încălzește la o temperatură de 65°C timp de 24 de ore. Se observă racemizarea completă a acidului.

30

Condiții de analiză:

Coloana Chiralpak® IC 250 4,6*

30% etanol absolut + 0,1 % ATFA + 70% heptan + 0,1% ATFA

1ml/min, 25°C, 288nm

35

EXEMPLUL 10: (7S)-3,4-Dimetoxi-N-metilbiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxamidă

Se suspendă acidul (7S)-3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilic obținut în Exemplul 5 (300 mg) în THF (3 mL) la temperatura mediului ambiant, apoi se adaugă trietilamină (200 μL). La acest amestec se adaugă lent cloroformat de etil (150 μL). Amestecul reacției se precipită (amestecul I).

40

Intr-un alt flacon, metilamina, ca soluție 2M în THF (2,25 mL) se amestecă cu apă (1 ml) și trietilamină (300 μL). Se agită în continuu timp de 20 de minute, iar apoi amestecul rezultat se adaugă la amestecul I și se agită la temperatura mediului ambiant, timp de o noapte.

45

Amestecul reacției este apoi evaporat și purificat prin HPLC preparativă.

(7S)-3,4-Dimetoxi-N-metilbiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxamida este obținută într-un randament de 60%.

¹H RMN (DMSO-d₆, ppm / TMS) = 2,61 (m; 3H); 3,16 (m; 2H); 3,71 (s; 6H); 4,05 (m; 1H); 6,78 (s; 1H); 6,81 (s; 1H); 7,78 (s; 1H).

50

EXEMPLUL 11: (7S)-3,4-Dimetoxi-N-metilbiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxamidă

Se suspendă (7S)-3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilat de metil (500 mg) în apă și apoi se adaugă lent, la temperatura mediului ambiant, 20 mL de soluție de metilamină de 33% în etanol absolut.

55

După ce se agită timp de 3 ore, amestecul reacției este evaporat. Reziduul obținut este purificat prin HPLC preparativă (eluant: apă/acetoneitril/acid trifluoroacetic de la 98/2/0,2 la 20/80/0,2) timp de 30 de minute pentru a obține produsul din titlu într-un randament de 70%.

EXEMPLUL 12: (7S)-3,4-Dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-il]-N-metil-metanamină

Se suspendă (7S)-3,4-dimetoxi-N-metilbiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxamidă (450 mg) în tetrahidrofuran (20 mL) și apoi la amestecul reacției se adaugă lent 1,6 mL de soluție de LiAlH₄ 2M în tetrahidrofuran la temperatura mediului ambiant. Se observă o degajare puternică de gaze și amestecul reacției devine limpede. Amestecul reacției se încălzește la reflux timp de 30 de minute.

După ce se readuce la temperatura mediului ambiant, se hidrolizează și apoi se extrage prin acetatul de etil. Se usucă pe MgSO₄ și apoi se evaporă. Reziduul obținut este purificat prin HPLC preparativă (eluant: apă/acetoneitril/acid trifluoroacetic de la 98/2/0,2 la 20/80/0,2) timp de 30 de minute pentru a obține produsul din titlu într-un randament de 46%.

¹H RMN (DMSO-d₆, ppm / TMS) = 2,60 (m; 3H); 2,85 (m; 1H); 3,15 (m; 1H); 3,25 (dd; 1H); 3,30 (m; 1H); 3,62 (m; 1H); 3,70 (s; 6H); 6,82 (s; 1H); 6,89 (s; 1H); 8,48 (s; 1H).

EXEMPLUL 13: (7S)-3,4-Dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-il]-N-metil-metanamină clorhidrat

20 mL de soluție molară de BH₃ în tetrahidrofuran se adaugă la temperatura mediului ambiant la amestecul de 2,2 g (10 mmol) de (7S)-3,4-dimetoxi-N-metilbiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxamidă în 45 mL de tetrahidrofuran. După 1 oră de agitare, se adaugă 10 mL de soluție de BH₃ în tetrahidrofuran. După ce s-a agitat pe parcursul nopții la temperatura mediului ambiant, se adaugă 20 mL de etanol în picături și amestecul se agită până când nu se mai degajă gaz (aproximativ 1 oră). Apoi se adaugă 20 mL de soluție de acid clorhidric în etanol în formă de picături. După ce se agită timp de 4 ore, precipitatul obținut (1,2 g de produs din titlu) este filtrat. Filtratul este concentrat și se obțin încă 0,65 g de produs din titlu, solidificându-l într-un amestec de acetat de etil/etanol în raport de 80/20.

Cele două precipitate sunt combinate pentru a se obține 1,85 g de produs din titlu (randament: 77 %).

EXEMPLUL 14: Clorhidrat de ivabradină

Se introduc 5,5 kg de 3-[2-(1,3-dioxolan-2-il)etil]-7,8-dimetoxi-1,3-dihidro-2H-3-benzazepină-2-onă, 27,5 litri de etanol și 550 g de paladiu pe carbon într-o autoclavă.

Se purjează cu azot și apoi cu hidrogen, se încălzește până la 55°C apoi se hidrogenează la această temperatură sub o presiune de 5 bari, până la absorbția cantității teoretice de hidrogen.

Apoi se readuce la temperatura mediului ambiant și se reduce presiunea în autoclavă.

Ulterior se adaugă 4 kg de clorhidrat de (7S)-3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-il]-N-metilmetanamină, 11 litri de etanol, 5,5 litri de apă și 1 kg de paladiu pe carbon.

Se purjează cu azot și apoi cu hidrogen, se încălzește până la temperatura de 85°C și apoi se hidrogenează la această temperatură sub o presiune de 30 de bari, până la absorbția cantității teoretice de hidrogen.

Apoi se readuce la temperatura mediului ambiant, se purjează autoclava și apoi se filtrează amestecul reacției; se distilează solvenții și apoi se izolează clorhidratul de ivabradină prin cristalizare dintr-un amestec de toluen/1-metil-2-pirolidinonă.

Astfel clorhidratul de ivabradină este obținut într-un randament de 85% și cu o puritate chimică mai mare de 99%.

EXEMPLU comparativ: Screeningul lipazelor și a esterazelor pentru hidroliza enzimatică a 3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilatului de metil

Se dizolvă 3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-trien-7-carboxilat de metil racemic (1 mg; c = 1 g/L) în 1 mL de amestec de tampon fosfat pH=7/toluen de 90/10.

5 mg (c = 5 g/L) de lipază sau esterază studiată se adaugă apoi la amestec (raport E/S - 5/1). Amestecul reacției se menține la o temperatură de 28°C, cu agitare rotativă la 220 rpm timp de 48 de ore.

Amestecul reacției este analizat prin HPLC în fază inversă și enantioselectivitatea (ee) esterului rezidual este controlată prin HPLC în fază chirală, conform metodelor descrise mai jos:

Condiții de analiză a amestecului de reacție prin HPLC în fază inversă:

*Kinetex® 2.6μm C18 50*2.1, 40°C, 0.6 ml/min 100 % A la 100% B în 5 minute*

A (1000 apă+25 ACN+1 ATFA)

B (1000 ACN+25 apă+1 ATFA)

Condiții de analiză a enantioselectivității prin HPLC în fază chirală:
 Coloana Chiralpak® IC 250*4,6 100 % etanol absolut, 1 ml/min, 25°C, 288 nm

5

Enantiomer	Timp de retenție (min)
(7R)	7,19
(7S)	9,03

Rezultatele sunt prezentate sumar în următorul tabel:

Lipază	% ester	% acid	Ester Ee ^a (%)	E ^b
Lipază pancreatică de porc Tip II	-	100	0	-
Lipază PS (<i>Pseudomonas cepacia</i>)	55	45	34 (enantio S)	3
Lipază AY 30 (<i>Candida rugosa</i>)	-	100	0	-
Lipază FAP-15 (<i>Rhizopus oryzae</i>)	45	55	52 (enantio S)	4
Lipază A6 (<i>Aspergillus niger</i>)	76	24	68 (enantio R)	6
Lipază AH (<i>Pseudomonas cepacia</i>)	90	10	14 (enantio S)	8
Lipază M "Amano"10 (<i>Mucor javanicus</i>)	60	40	36 (enantio S)	5
Lipază din <i>Aspergillus oryzae</i>	78	22	64 (enantio S)	5
Lipază G "Amano" (<i>Penicillium camemberti</i>)	40	60	26 (enantio R)	2
Lipază AYS "Amano" (<i>Candida rugosa</i>)	60	40	4 (enantio R)	1
Lipază R "Amano" (<i>Penicillium roqueforti</i>)	-	100	0	
Esterază din ficat de porc	-	100	0	
Esterază din <i>Rhizopus oryzae</i>	40	60	50 (enantio S)	3
Esterază din <i>Mucor miehei</i>	79	21	45 (enantio S)	6
Esterază din ficat de cal	-	100	0	
Newlază F (<i>Rhizopus niveus</i>)	-	100	0	-
Lipază de <i>Pseudomonas fluorescens</i>	25	75	90 (enantio S)	6
Lipază B de <i>Candida antarctica</i> (Novozym® 435)	30	70	94 (enantio S)	9

10

^a Exces enantiomeric ee (en %) = % enantioE2 - % enantioE1 / % enantio E2 + % enantio E1 (enantio E2 fiind enantiomerul predominant)

^b Coeficient de enantioselectivitate E = $\ln[(1-c)(1-ee(S))] / \ln[(1-c)(1+ee(S))]$; c = nivelul de conversie = ee(ester) / ee(ester) + ee(acid)

15

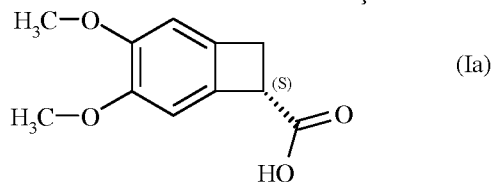
Descrierea se publică în redacția solicitantului și în baza revendicărilor coordonate.

(56) Referințe bibliografice citate in descriere:

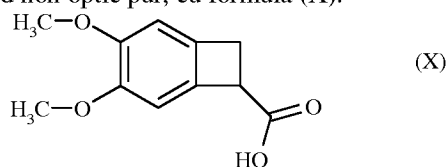
1. EP 534859 A1 1993-03-31
description example 2,3, STADE B, C, E;
2. EP1598333 A1 2005.11.23
3. EP2166004 A1 2010.03.24

(57) Revendicări:

1. Procedeu de obținere a compusului optic pur cu formula (Ia):



care cuprinde esterificarea enantioselectivă a acidului racemic sau a unui alt acid non optic pur, cu formula (X):



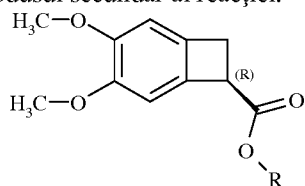
cu ajutorul unei lipaze de *Candida antarctica* sau *Pseudomonas fluorescens*, într-un amestec de alcool ROH, unde R reprezintă o grupare alchil C₁-C₆ liniară sau ramificată, și un cosolvent organic,

într-o concentrație cuprinsă între 5 și 500 g de compus cu formula (X) pe litru de amestec de solvenți,

într-un raport E/S cuprins între 10/1 și 1/100,

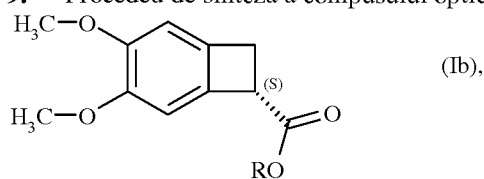
la o temperatură cuprinsă între 25°C și 40°C.

2. Procedeu conform revendicării 1, unde raportul E/S este cuprins între 1/5 și 1/10.
3. Procedeu conform uneia dintre revendicările 1-2, unde alcoolul ROH este metanol, iar co-solventul este acetonitril.
4. Procedeu conform revendicării 3, unde raportul de acetonitril/metanol este cuprins între 8/2 și 9/1.
5. Procedeu conform uneia dintre revendicările 1-4, unde esterul cu configurația (R), produsul secundar al reacției:



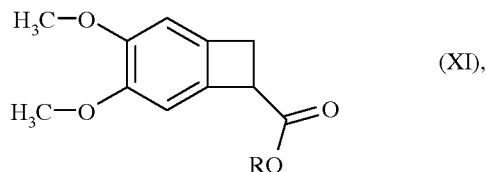
este hidrolizat prin acțiunea unei baze pentru a forma acidul racemic cu formula (X) cu scopul de a fi reciclat în procesul de esterificare enzimatică.

6. Procedeu conform revendicării 5, unde baza este KOH.
7. Procedeu conform uneia dintre revendicările 5 sau 6, unde etapa de hidroliză/racemizare este efectuată *in situ*.
8. Procedeu conform uneia dintre revendicările 1-7, unde acidul cu formula (Ia) este izolat după unul sau mai multe cicluri de esterificare enzimatică.
9. Procedeu de sinteză a compusului optic pur cu formula (Ib):



unde R reprezintă o grupare alchil C₁-C₆ liniară sau ramificată,

care cuprinde hidroliza enzimatică enantioselectivă a esterului racemic sau a unui alt ester non optic pur, cu formula (XI):



unde R reprezintă o grupare alchil C₁-C₆ liniară sau ramificată,

cu ajutorul unei lipaze de *Candida antarctica* sau *Pseudomonas fluorescens*, în apă, într-o soluție tampon cu pH=5 până la 8 sau într-un amestec de solvent organic și apă sau soluție tampon cu pH=5 până la 8, într-o concentrație cuprinsă între 1 și 200 g de compus cu formula (XI) pe litru de solvent sau amestec de solvenți,

intr-un raport E/S cuprins între 10/1 și 1/100, la o temperatură cuprinsă între 25°C și 40°C, urmată de izolarea esterului cu formula (Ib).

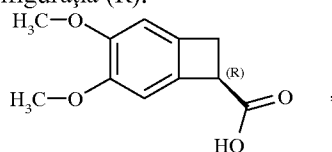
10. Procedeu de sinteză conform revendicării 9, unde raportul E/S este cuprins între 1/5 și 1/10.

11. Procedeu de sinteză conform uneia dintre revendicările 9 - 10, unde R este o grupare metil.

12. Procedeu de sinteză conform uneia dintre revendicările 9 - 11, unde reacția este realizată într-un amestec de acetonitril și o soluție tampon cu pH=7.

13. Procedeu de sinteză conform revendicării 12, unde raportul de acetonitril/tampon pH=7 este cuprins între 8/2 și 9/1.

14. Procedeu de sinteză conform uneia dintre revendicările 9-13, unde acidul cu configurația (R):

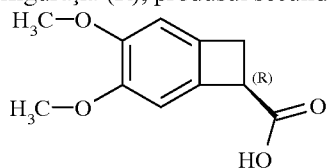


produsul secundar al reacției,

este racemizat prin acțiunea unei baze, după care acidul racemic astfel obținut este alchilat pentru a forma ester racemic cu formula (XI), pentru a fi reciclat în procesul de hidroliză enzimatică.

15. Procedeu de sinteză conform revendicării 14, unde acidul cu configurația (R) este racemizat prin acțiunea KOH la cald.

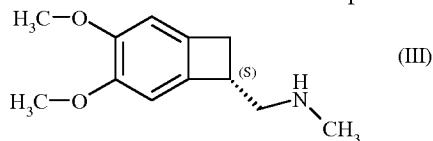
16. Procedeu de sinteză conform uneia dintre revendicările 9 - 13, unde acidul cu configurația (R), produsul secundar al reacției:



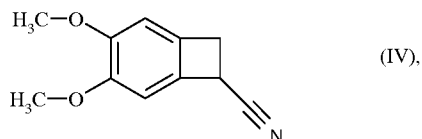
este mai întâi alchilat, ulterior esterul cu configurația (R) astfel obținut este racemizat prin acțiunea unei baze, pentru a fi reciclat în procesul de hidroliză enzimatică.

17. Procedeu de sinteză conform revendicării 16, unde esterul cu configurația (R) este racemizat prin acțiunea DBU la cald sau a KOH la temperatura mediului ambiant.

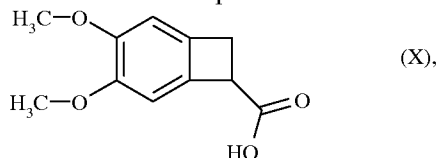
18. Procedeu de sinteză a compusului cu formula (III):



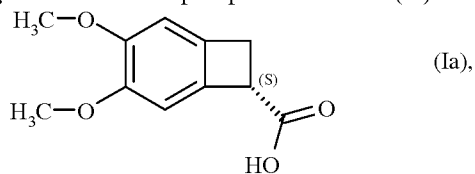
pornind de la nitrilul cu formula (IV):



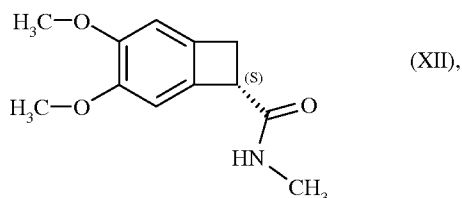
care este hidrolizat pentru a forma acidul racemic cu formula (X):



esterificarea enzimatică a căruia, conform uneia dintre revendicările 1 – 10, duce la obținerea acidului optic pur cu formula (Ia):

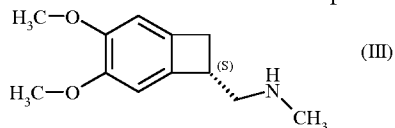


care ulterior este transformat în amida optic pură cu formula (XII):

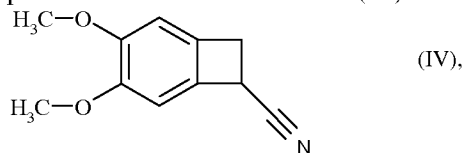


reducerea căreia duce la obținerea compusului cu formula (III).

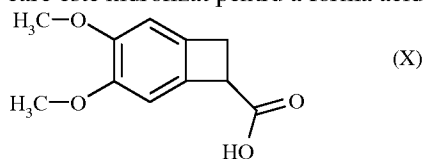
19. Procedeu de sinteză a compusului cu formula (III):



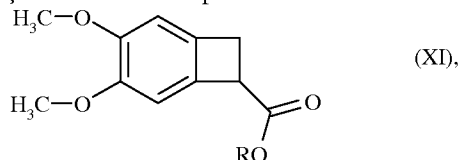
pornind de la nitrilul cu formula (IV):



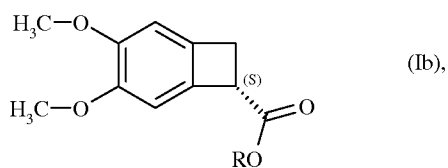
care este hidrolizat pentru a forma acidul racemic cu formula (X):



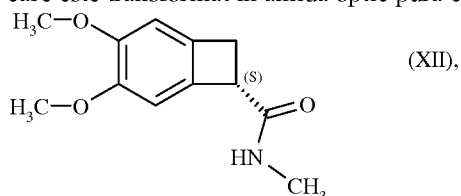
și ulterior alchilat pentru a forma esterul racemic cu formula (XI):



unde R reprezintă o grupare alchil C₁-C₆ liniară sau ramificată,
hidroliza enzimatică a căruia, conform uneia dintre revendicările 9-17, duce la obținerea esterului optic pur cu formula (Ib):



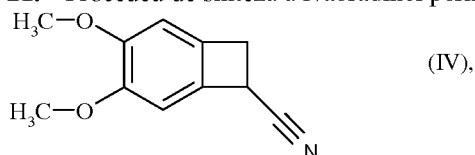
unde R reprezintă o grupare alchil C₁-C₆ liniară sau ramificată, care este transformat în amidă optic pură cu formula (XII):



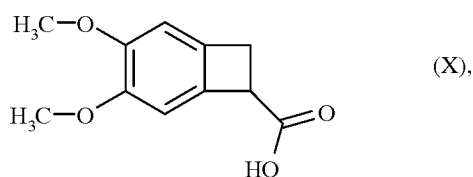
reducerea căreia duce la obținerea compusului cu formula (III).

20. Procedeu de sinteză conform uneia dintre revendicările 18 sau 19, unde reducerea compusului cu formula (XII) pentru a forma compusul cu formula (III) este efectuată de BH₃, NaBH₄ sau LiAlH₄.

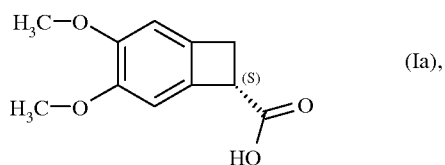
21. Procedeu de sinteză a ivabradinei pornind de la nitrilul cu formula (IV):



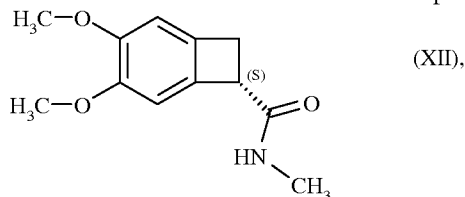
care este hidrolizat pentru a forma acidul racemic cu formula (X):



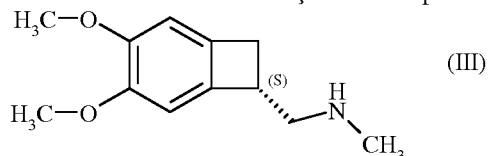
esterificarea enzimatică a căruia, conform uneia dintre revendicările 1 – 10, duce la obținerea acidului optic pur cu formula (Ia):



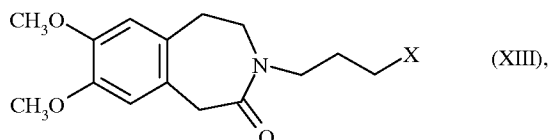
care este ulterior transformat în amida optic pură cu formula (XII):



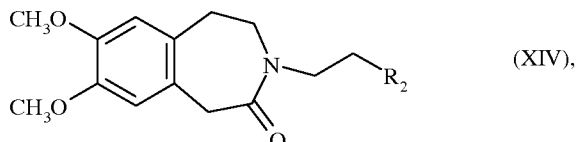
reducerea căreia duce la obținerea compusului cu formula (III).



unde compusul cu formula (III) este ulterior cuplat cu un compus cu formula (XIII):

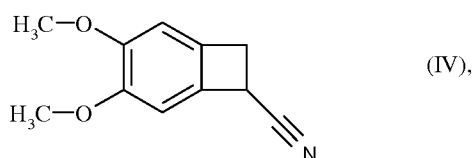


unde X reprezintă un atom de halogen,
ori supus unei reacții de aminare reductivă cu un compus cu formula (XIV) în prezența unui agent reducător:

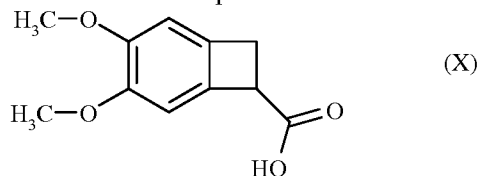


unde R₂ reprezintă o grupare selectată dintre CHO și CHR₃R₄,
unde R₃ și R₄ reprezintă fiecare o grupare alcoxi (C₁-C₆) liniară sau ramificată sau formează, împreună cu atomul de carbon care le poartă, un ciclu 1,3-dioxan, 1,3-dioxolan sau 1,3-dioxepan, pentru a obține ivabradina, care este ulterior transformată într-o sare de adiție cu un acid acceptabil farmaceutic, sarea respectivă fiind în formă anhidră sau hidratată.

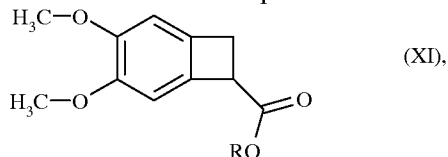
22. Procedeu de sinteză a ivabradinei pornind de la nitrilul cu formula (IV):



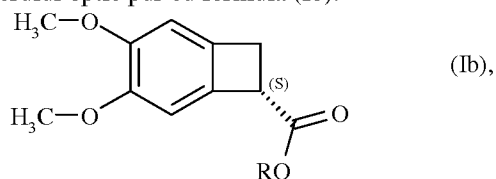
care este hidrolizat pentru a forma acidul racemic cu formula (X):



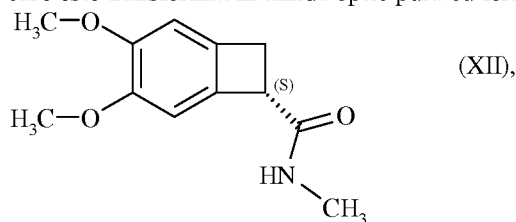
iar ulterior este alchilat pentru a forma esterul racemic cu formula (XI):



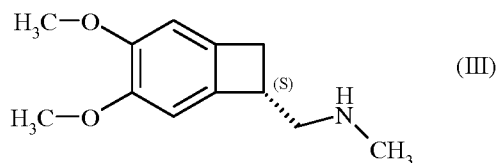
unde R reprezintă o grupare alchil C₁-C₆ liniară sau ramificată,
hidroliza enzimatică a căruia, conform uneia dintre revendicările 11 – 21, duce la obținerea esterului optic pur cu formula (Ib):



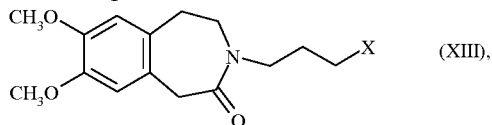
unde R reprezintă o grupare alchil C₁-C₆ liniară sau ramificată,
care este transformat în amidă optic pură cu formula (XII):



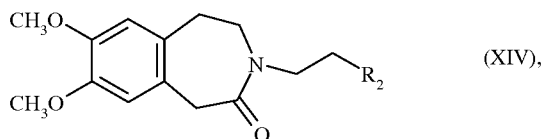
reducerea căreia duce la obținerea compusului cu formula (III)



unde compusul cu formula (III) este ulterior cuplat cu un compus cu formula (XIII):



unde X reprezintă un atom de halogen,
ori supus unei reacții de aminare reductivă cu un compus cu formula (XIV) în prezența unui agent reducător:



unde R₂ reprezintă o grupare selectată dintre CHO și CHR₃R₄,
unde R₃ și R₄ reprezintă fiecare o grupare alcoxi (C₁-C₆) liniară sau ramificată sau formează, împreună cu atomul de carbon care le poartă, un ciclu 1,3-dioxan, 1,3-dioxolan sau 1,3-dioxepan, pentru a obține ivabradină, care este ulterior transformată într-o sare de adiție cu un acid acceptabil farmaceutic, sarea respectivă fiind în formă anhidră sau hidrată.

Șef Direcție Brevete:

IUSTIN Viorel

Șef Secție Examinare:

LEVIȚCHI Svetlana

Examinator:

JOVMIR Tudor

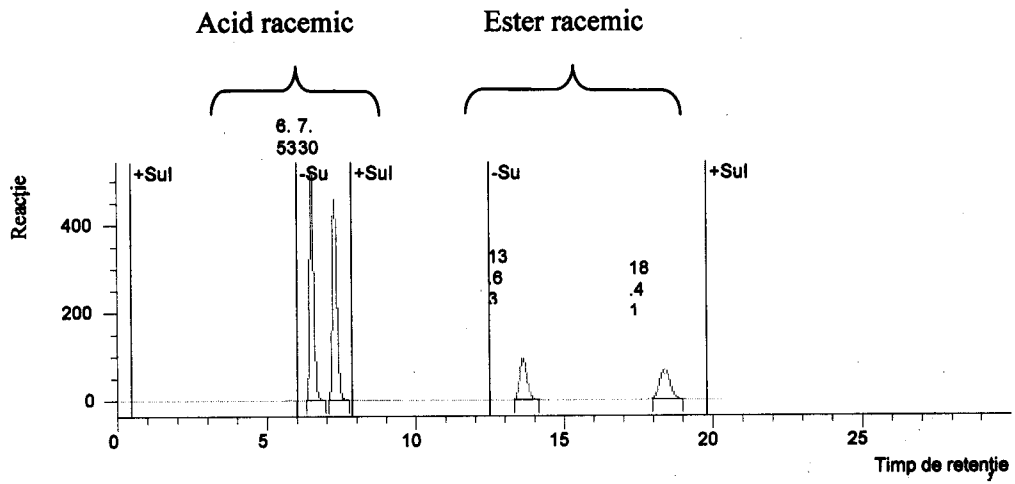
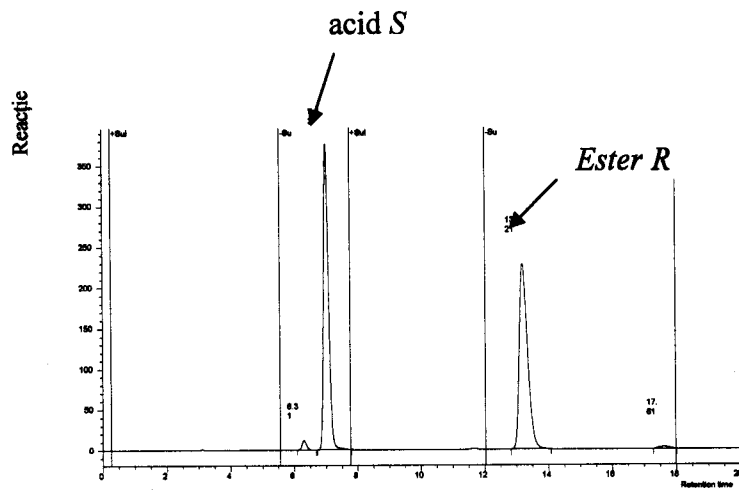


Fig. 1



TR (min)	Suprafața (%)
6,31	1,32
7,03	48,86
13,21	49,06
17,61	0,76

Fig. 2

RAPORT DE DOCUMENTARE

I. Datele de identificare a cererii

(21) Nr. depozit: a 2013 0008 (32) Data de prioritate recunoscută: 2012.02.09
 (22) Data depozit: 2013.02.07 Raport de documentare internațională: **Nu**
 (71) Solicitant: **LES LABORATOIRES SERVIER, FR**
 (54) **Titlul: Procedeu de sinteză enzimatică a acidului (7S)-3,4-dimetoxibiciclo[4.2.0]octa-1,3,5-triene-7-carboxilic sau a esterilor săi, și aplicarea lor în sinteza ivabradinei și a sărurilor sale**

II. Clasificarea obiectului invenției:

(51) **Int.Cl:** **C07C 13/44** (2006.01) **C07C 217/56** (2006.01)
C07C 43/275 (2006.01) **C07D 223/16** (2006.01)
C07C 39/14 (2006.01) **C07B 53/00** (2006.01)
C07C 39/17 (2006.01) **C07B 57/00** (2006.01)
C07C 209/26 (2006.01) **C12N 9/18** (2006.01)
C07C 211/11 (2006.01) **C12N 9/20** (2006.01)

III. Colecții și Baze de date de brevete cercetate (denumirea, termeni caracteristici, ecuații de căutare reprezentative). Dacă nu este specificat cuvintele-cheie se referă la Title/Abstracts

MD - Intern « Documentare Invenții » (inclusiv cereri nepublicate; **trunchiere automată stanga/dreapta**): full-text: ivabradin ; benzazepin ; dimetoxibiciclo ;

"Worldwide" (Espacenet): ivabradine AND (enzym* OR biocataly* OR ferment*) ; benzcycl* ; enantioselective AND enzymatic AND esterification ; «lipase catalysis» AND esterification ; enantioselective AND enzymatic AND hydrolysis ; enzymatic AND esterification AND racemic AND acid ; «dynamic kinetic resolution» AND ester* ; DKR ; (racemization OR racemisation) AND acid* AND ester* AND base AND publ.date= 1960:20120207 ; applicant= Servier ;

Alte BD – **Amberscope** : seeding documents – WO2011138625 + EP 2145871 + WO 2010023383

IV. Baze de date și colecții de literatură nonbrevet cercetate

Google ; Google Scholar ; Google Prior Art Finder – vezi conceptele de mai sus

V. Documente considerate a fi relevante

Categoria*	Date de identificare ale documentelor citate si, unde este cazul, indicarea pasajelor pertinente	Numărul revendicării vizate
A	Davis B.G., Boyer V. Biocatalysis and enzymes in organic synthesis. <i>Nat. Prod. Rep.</i> , 2001, 618-640. DOI: 10.1039/b003667f, Regăsit în Internet la 2016.07.30, url: http://users.ox.ac.uk/~dplb0149/publication/NPRBiocatalysisRev.pdf chapters 1, 2	1-24
A	WO 2010/023383 A1 2010-03-04	1-24

	documentul integral	
A	Dynamic Kinetic resolution in Asymmetric synthesis. Wikipedia, The Free Enciclopedia. Regăsit în Internet la 2016.07.26, url: https://en.wikipedia.org/wiki/Dynamic_kinetic_resolution_in_asymmetric_synthesis	7-24
Y, C	WO 2011/138625 A1 2011-11-10 documentul integral	1-28
Y	Kirchner G., Scollar M.P. and Klivanov A.M."Resolution of Racemic Mixtures via Lipase Catalysis in Organic Solvents" J. Am. Chem. Soc. 1985, 107, 7072-7076 documentul integral; referințele incluse	1-24
Y	US 5561057 A 1996-10-01 description, column 1, 2, schemes II and IIa; column 3, example 1; Claims 1	1-24
Y	EP 319024 A2 1989-06-07 description, examples 1-4	18-22
Y	WO 2007/129018 A1 2007-11-15 Description, page 4, 5	7-24
X	EP 1589005 A1 2005-10-26 description, example 1; revendications 1, 11	25-28
Y, D	EP 534859 A1 1993-03-31 description example 2,3, STADE B, C, E;	25-28
Y, L	FR 2986804 A1, RAPPORT DE RECHERCHE PRELIMINARE INPI Raportul conține documente relevante regăsite de INPI (FR)	1-28

*** categoriile speciale ale documentelor citate:**

A – document care definește stadiul anterior general	T – document publicat după data depozitului sau a priorității invocate, care nu aparține stadiului pertinent al tehnicii, dar care este citat pentru a pune în evidență principiul sau teoria pe care se bazează invenția
X – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată nouă sau implicând activitate inventivă când documentul este luat în considerație de unul singur	E – document anterior dar publicat la data depozit național reglementar sau după aceasta dată
Y – document de relevanță deosebită: invenția revendicată nu poate fi considerată ca implicând activitate inventivă când documentul este asociat cu unul sau mai multe documente de aceeași categorie	D – document menționat în descrierea cererii de brevet
O - document referitor la o divulgare orală, un act de folosire, la o expoziție sau la orice alte mijloace de divulgare	C – document considerat ca cea mai apropiată soluție
	& – document, care face parte din aceeași familie de brevete
P - document publicat înainte de data de depozit, dar după data priorității invocate	L – document citat cu alte scopuri

Data finalizării documentării 2016.09.02

Examinator JOVMIR Tudor