

Sposób otrzymywania enancjomerów 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu

Przedmiotem wynalazku jest sposób otrzymywania enancjomerów (*R*) i (*S*) 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu.

(*R*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanol jest podstawowym substratem do otrzymywania klemastyny – leku o działaniu przeciwhistaminowym I generacji, który jest antagonistą receptorów H₁. Klemastyna jest powszechnie stosowanym lekiem w leczeniu alergicznego nieżytu nosa oraz łagodzeniu objawów związanych z przeziębieniem. (*R*)-2-(1-metylo-2-pirolidono)etanol może być stosowany również do produkcji N,N-dimetylokarbaminianu (*R*)-2-(1-metylo-2-pirolidono)etanolu. Związek ten należy do grupy neurotransmiterów, odpowiedzialnych za oddziaływanie z receptorami nikotynowymi. Pochodna ta pełni funkcję agonisty receptorów nikotynowych acetylocholino. Obecnie stosowana jest w leczeniu depresji ze względu na zdolność oddziaływania z receptorami serotoninowymi. Optycznie czynny (*R*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanol może być stosowany jako chiralny pomocnik w reakcjach otrzymywania optycznie czynnych ketonów.

Jedną z metod otrzymywania (*R*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu jest siedmioetapowa synteza, w której substratem jest trudnodostępny 1-amino-1-fenyletan o konfiguracji (*S*) (Stanchev, S., Milenkov, B., Dimitrov, V.; *Heterocycles*; 24, 1825-1829, 1986). Inna metoda polega na dwuetapowej przemianie również niekomercyjnego i trudnodostępnego związku -(*R*)-N-formylo-2-pirolidynoocetanu etylu (McCalmont W., Tiffany N.; *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*; 14, 3961-3696, 2004). (*R*)-2-(1-Metylo-2-pirolidyno)etanol można otrzymać na drodze rozdzielania racematu przez krystalizację jego diastereoizomerycznych soli z optycznie czynnym kwasem (-)-di-p-toluilowinowym (Fogassy, M., Elmer, Szili; *Patent*, HU 61278; A2; 19921228, 1992). Właściwy produkt, po wielokrotnej krystalizacji, uzyskuje się z niską wydajnością około 30%. Problemy związane z wyżej wymienionymi sposobami to: trudnodostępne substraty, uciążliwe wieloetapowe syntezy, niskie wydajności i niska czystość optyczna produktóu.

Sposób otrzymywania enancjomerów (*R*) i (*S*) 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu według wynalazku polega na tym, że racemiczny 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanol poddaje się enzymatycznej transestryfikacji estrami kwasów karboksylowych wobec lipaz.

W drugim wariantcie wynalazku racemiczne estry 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu i kwasów karboksylowych o wzorze 1, w którym R oznacza atom wodoru, grupę acylową, benzoilową lub karboksyetylokarbonylową, poddaje się enzymatycznej hydrolizie wobec lipaz.

Zarówno proces transestryfikacji, jak i hydrolizy, prowadzi się w rozpuszczalnikach organicznych, korzystnie wybranych z grupy zawierającej: toluen, eter tert-butyloowo-metylowy, eter diizopropylowy, dioksan, THF. W przypadku reakcji hydrolizy stosuje się rozpuszczalniki wysyczone wodą.

Jako czynnik acylujący w reakcji transestryfikacji korzystnie stosuje się octany nienasyconych alkoholi alifatycznych i cyklicznych, najkorzystniej octan winylu, octan izopropenylu, octan 2-metylocykloheksenolu, a także estry alkoholi zawierających grupę benzoilową, najkorzystniej benzoesan metylu, etylu, winylu i izopropenylu. Stosuje się również bezwodniki kwasów dikarboksylowych, najkorzystniej bezwodnik kwasu bursztynowego.

Czynnik acylujący w reakcji transestryfikacji stosuje się w ilości równomolowej lub w nadmiarze od 1,1 do 1,5 krotnym w stosunku do alkoholu.

Jako katalizatory stosuje się lipazy w formie natywnej lub immobilizowane, w ilościach od 1% do 15% wagowych w stosunku do alkoholu. Korzystnie stosuje się lipazy z: *Candida antarctica*, *Aspergillus Niger*, *Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia cepacia*, *Candida antarctica*.

Proces korzystnie prowadzi się w temperaturze 20 - 45°C, korzystnie 30 - 35°C, w czasie od kilkudziesięciu minut do 100 godzin, w zależności od stosowanego czynnika acylującego i enzymu.

Proces prowadzi się w układzie termostatowanym, z wykorzystaniem mieszadła magnetycznego lub wytrząsarki do osiągnięcia 50% konwersji substratu. Produkty wydziela się przez destylację frakcyjną po uprzednim oddzieleniu enzymu i oddestylowaniu rozpuszczalnika, lub metodą żelowej chromatografii kolumnowej.

Sposób według wynalazku pozwala na otrzymanie enancjomerów (R) i (S) 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu lub jego estrów przy użyciu handlowych łatwo dostępnych enzymów. Racemiczny 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanol otrzymuje się dogodnymi sposobami z N-metylo-2-pirolidonu lub z naturalnego aminokwasu (L)-proliny. Racemiczne estry 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu otrzymuje się w znany sposób poprzez chemiczną estryfikację alkoholu.

Jako lipazy można stosować: Nowozym 435-lipaza z *Candida antarctica*, Ammano A – lipaza z *Aspergillus Niger*, Ammano PS - lipaza z *Pseudomonas fluorescens*, Ammano PS-IM – lipaza z *Burkholderia cepacia*, Chirazym L-9, CF, C2 - lipaza z *Candida antarctica*.

W wyniku reakcji transestryfikacji lub hydrolizy otrzymuje się zawsze mieszaninę alkoholu i estru, przy czym każdy z produktów występuje w innej formie enancjomerycznej. Mieszaninę produktów rozdziela się w znany sposób, np. na kolumnie chromatograficznej. Estry można następnie poddać hydrolizie w znany sposób w celu otrzymania alkoholu o odpowiedniej formie optycznej.

W procesie według wynalazku prowadzonym w łagodnych warunkach uzyskuje się produkty o wysokim stopniu czystości i z wysokimi nadmiarami enancjomerycznymi. Stosowane enzymy po zakończonym procesie przemywa się rozpuszczalnikiem i po wysuszeniu zwraca się do następnej reakcji. Sposób według wynalazku ilustrują przykłady wykonania.

Przykład 1

W kolbie o pojemności 50mL umieszczono 1g (7,74 mmol) 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu, 1g (11,61 mmol) octanu winylu, 20mg enzymu lipazy Amano AK oraz 15 mL eteru t-butylo-metylowego (TBME). Kolbę umieszczono w termostатовanej powietrznej wytrząsarce mechanicznej, na której ustalono temperaturę 30°C i 300obr./min. Stopień konwersji był kontrolowany za pomocą chromatografii gazowej. Po upływie 94 godzin reakcja była przerywana poprzez odsączenie enzymu na lejku Shotta. Enzym przemyto dwoma porcjami (ok. 5mL) TBME i dodano do przesączu. Następnie rozpuszczalnik odparowano na wyparce w temperaturze 35°C. Otrzymana mieszanina estru i alkoholu rozdzielana była na kolumnie chromatograficznej ze złożem Keisegel 60, 230-400 mesh, a eluentem był roztwór heksan : octan etylu w stosunku objętościowym 1:9. Otrzymany ester i alkohol poddawano analizie HPLC celem określenia nadmiaru enancjomerycznego. Stopień konwersji w przeprowadzonej reakcji wynosił 48%. Otrzymano 0,6g (3,56 mmol) octanu (R)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu, co stanowi 46% wydajności. Nadmiar enancjomeryczny estru $ee_{\text{estru}} = 89\%$. Skręcalność właściwa estru mierzona w metanolu o stężeniu 1g/100mL wynosiła; $[\alpha]_{\text{estru}} = +44,78$. (S)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanol uzyskano z 40% wydajnością, $ee_{\text{alk.}} = 86\%$. a skręcalność właściwa alkoholu $[\alpha]_{\text{alkoholu}}$ wynosiła -47,56.

Przykład 2

Postępując jak w Przykładzie 1 użyto do reakcji 1g (7,74 mmol) 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu, 1,16g (7,74 mmol) benzoesanu etylu, 20mg enzymu lipazy Nowozym 435 oraz 15 mL eteru t-butylo-metylowego (TBME). Proces prowadzono 92 godziny. Stopień

konwersji określany metodą GC wynosił 46%. Ester od alkoholu rozdzielano na kolumnie ze złożem Keisegel 60, 230-400 mesh, a eluentem był roztwór heksan : octan etylu w stosunku objętościowym 5:1. Otrzymano 0,81g (3,48 mmol) benzoesanu (*R*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu co stanowi 45 % wydajności. Nadmiar enancjomeryczny estru $ee_{\text{estru}} = 93\%$. Skręcalność właściwa estru mierzona w metanolu o stężeniu 1g/100mL wynosiła; $[\alpha]_{\text{estru}} = -48,68$. (*S*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanol uzyskano z 42% wydajnością, $ee_{\text{alk.}} = 88\%$. a skręcalność właściwa alkoholu $[\alpha]_{\text{alkoholu}} = -49,56$. Benzoesan (*R*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu poddano hydrolizie w 2% wodno metanolewym (1 : 1) roztworze NaOH. Uzyskany alkohol (*R*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanol miał $ee_{\text{alkoholu}} = 92,5\%$ a jego skręcalność właściwa $[\alpha]_{\text{alkoholu}}$ wynosiła +53,16.

Przykład 3

Postępując jak w Przykładzie 1 użyto do reakcji 1g (7,74 mmol) 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu, 0,93g (9,28 mmol) bezwodnika bursztynowego, 15mg enzymu lipazy Nowozym 435 oraz 15 mL 1,4-dioksanu. Proces prowadzono 40 minut. Stopień konwersji określany metodą GC wynosił 45%. Ester od alkoholu rozdzielano na kolumnie wypełnionej złożem Keisegel 60, 230-400 mesh, a eluentem był roztwór heksan : octan etylu w stosunku objętościowym 4:1. Otrzymano 0,82g monoestru (*R*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu kwasu bursztynowego co stanowi 46% wydajności. Nadmiar enancjomeryczny estru $ee_{\text{estru}} = 98,7\%$. Skręcalność właściwa estru mierzona w metanolu o stężeniu 1g/100mL wynosiła; $[\alpha]_{\text{estru}} = -159,98$. (*S*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanol uzyskano z 41% wydajnością, $ee_{\text{alk.}} = 86\%$. a skręcalność właściwa alkoholu $[\alpha]_{\text{alkoholu}} = -57,24$.

Przykład 4

Postępując jak w Przykładzie 1 użyto do reakcji 1g (7,74 mmol) 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu, 0,93g (9,28 mmol) bezwodnika bursztynowego, 10 mg enzymu Nowozym 435 oraz 15 mL 1,4-dioksanu. Proces prowadzono 45 minut. Stopień konwersji określany metodą GC wynosił 43%. Po tym czasie kolbę z zawartością utrzymywano w temperaturze 0 - 5°C przez 2 godziny. Wydzielony oleisty produkt rozpuszczono w nasyconym roztworze NaHCO₃, następnie odsączono enzym i przemyto go nasyconym roztworem kwaśnego węgla sodu. Połączone roztwory zakwaszono kwasem octowym do pH 6, zatężono i odsączono sad. Otrzymany produkt krystalizowano z 2-propanolu, uzyskując 0,78g czystego bursztynianu 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu, co stanowi 44% wydajności Nadmiar enancjomeryczny estru $ee_{\text{estru}} = 98,3\%$. Skręcalność właściwa estru mierzona w metanolu o stężeniu 1g/100mL wynosiła; $[\alpha]_{\text{estru}} = -157,87$. (*S*)-2-(1-metylo-2-

pirolidyno)etanol uzyskano z 40% wydajnością, $ee_{alk.} = 87\%$. a skręcalność właściwa alkoholu $[\alpha]_{alkoholu} = -57,64$.

Przykład 5

Użyto do reakcji 1g (7,74 mmol) 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu, 0,93g (9,28 mmol) bezwodnika bursztynowego, 30mg (3%_{wag.}) enzymu - Lipazy Ammano PS. oraz 15 mL 1,4-dioksanu. Proces prowadzono przez 80 minut na wytrząsarce 300 obr/min i temp. 30°C. Stopień konwersji określany metodą GC wynosił 46%. Postępując dalej jak w przykładzie 4 otrzymano 0,76g czystego bursztynianu 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu, co stanowi 43% wydajności Nadmiar enancjomeryczny estru $ee_{estru} = 99,8\%$. Skręcalność właściwa estru mierzona w metanolu o stężeniu 1g/100mL wynosiła; $[\alpha]_{estru} = -158,17$. (S)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanol uzyskano z 41% wydajnością, $ee_{alk.} = 96,3\%$. a skręcalność właściwa alkoholu $[\alpha]_{alkoholu} = -58,62$.

Przykład 6

Użyto do reakcji 1g (7,74 mmol) 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu, 1,19g (7,74 mmol) octanu 2-metylocykloheksenolu, 15 mg enzymu Nowozym 435 oraz 15mL eteru *t*-butyloowo-metylowego. Proces prowadzono przez 44 godziny na wytrząsarce 300 obr/min i temp. 30°C. Stopień konwersji określany metodą GC wynosił 49%. Postępując dalej jak w przykładzie 1 otrzymano mieszaninę estru i alkoholu, którą rozdzielano na kolumnie chromatograficznej ze złożem Keisegel 60, 230-400 mesh, a eluentem był roztwór heksan : octan etylu w stosunku objętościowym 1:9. Uzyskiwano produkty o przeciwnych konfiguracjach niż w poprzednich przykładach. Otrzymano 0,58g (3,38 mmol) octanu (R)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu co stanowi 44 % wydajności. Nadmiar enancjomeryczny estru $ee_{estru} = 92\%$. Skręcalność właściwa estru mierzona w metanolu o stężeniu 1g/100mL wynosiła; $[\alpha]_{estru} = -45,28$. (S)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanol uzyskano z 40% wydajnością, $ee_{alk.} = 86\%$. a skręcalność właściwa alkoholu $[\alpha]_{alkoholu}$ wynosiła +56,66.

Przykład 7

W kolbie o pojemności 50mL umieszczono 1g (5,84 mmol) octanu 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu, 15mg enzymu Novozym 435 oraz 15 mL eteru *t*-butyloowo-metylowego wysyconego wodą. Proces prowadzono przez 180 minut na wytrząsarce 300 obr/min i temp. 30°C. Stopień konwersji określany metodą GC wynosił 47%. Reakcja była przerywana poprzez odsączenie enzymu na lejku Shotta. Enzym przemyto dwoma porcjami (ok. 5mL) TBME i dodano do przsączu. Następnie rozpuszczalnik odparowano na wyparce próżniowej. Otrzymano mieszaninę estru i alkoholu, którą rozdzielano na kolumnie chromatograficznej ze złożem Keisegel 60, 230-400 mesh, a eluentem był roztwór heksan : octan etylu w stosunku

objętościowym 1:9. Otrzymano 0,32g alkoholu - (*R*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu co stanowi 42 % wydajności. Nadmiar enancjomeryczny alkoholu $ee_{alk} = 93\%$. Skręcalność właściwa alkoholu mierzona w metanolu o stężeniu 1g/100mL wynosiła; $[\alpha]_{alkoholu} = +54,20$. Uzyskano 0,48g octanu (*S*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu. Nadmiar enancjomeryczny estru $ee_{estru} = 91,5\%$. Skręcalność właściwa estru mierzona w metanolu o stężeniu 1g/100mL wynosiła; $[\alpha]_{estru} = -48,30$.

Przykład 8

Postępując jak w przykładzie 7 użyto 1g (5,84 mmol) octanu 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu, 15mg enzymu Ammano PS oraz 15 mL eteru *t*-butyloowo-metylowego wysyconego wodą. Proces prowadzono przez 8 godzin na wytrząsarce 300 obr/min i temp. 30°C. Stopień konwersji określany metodą GC wynosił 49%. Postępując jak w przykładzie 7 uzyskano 0,34g alkoholu (*R*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu co stanowi 44,6% wydajności. Nadmiar enancjomeryczny alkoholu $ee_{alkoholu} = 94,5\%$. Skręcalność właściwa alkoholu mierzona w metanolu o stężeniu 1g/100mL wynosiła; $[\alpha]_{alkoholu} = +54,80$. Uzyskano 0,46g octanu (*S*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu. Nadmiar enancjomeryczny estru $ee_{estru} = 92,7\%$. Skręcalność właściwa estru mierzona w metanolu o stężeniu 1g/100mL wynosiła; $[\alpha]_{estru} = -49,50$.

Przykład 9

Postępując jak w przykładzie 7 użyto 1g (4,29 mmol) benzoesanu 2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu, 15mg enzymu Novozym 435 oraz 15 mL eteru *t*-butyloowo-metylowego wysyconego wodą. Proces prowadzono przez 6 godzin na wytrząsarce 300 obr/min i temp. 30°C. Stopień konwersji określany metodą GC wynosił 49%. Postępując dalej jak w przykładzie 7 stosowano do rozdziału na kolumnie octan etylu : heksan w stosunku 1 : 5 Uzyskano 0,24g alkoholu (*R*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu co stanowi 43,3 % wydajności. Nadmiar enancjomeryczny alkoholu $ee_{alk} = 94\%$. Skręcalność właściwa alkoholu mierzona w metanolu o stężeniu 1g/100mL wynosiła; $[\alpha]_{alkoholu} = +54,70$. Uzyskano również 0,42g benzoesanu (*S*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu. Jego nadmiar enancjomeryczny $ee_{estru} = 93,4\%$. Skręcalność właściwa estru mierzona w metanolu o stężeniu 1g/100mL wynosiła; $[\alpha]_{estru} = +48,20$.

Przykład 10

Hydroliza octanu (*S*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu

5g (58,39 mmol) octanu (*S*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu otrzymanego zgodnie z przykładem 8 mieszano przez godzinę w temperaturze pokojowej z 25 mL metanolu i 10 mL 2N roztworu NaOH, po czym odparowano rozpuszczalnik na wyparce obrotowej pod

zmniejszonym ciśnieniem i zakwaszono kwasem octowym do odczynu kwaśnego (pH = 4). Produkt wyekstrahowano octanem etylu i po odparowaniu rozpuszczalnika destylowano pod zmniejszonym ciśnieniem, zbierając frakcję w temperaturze 111-112°C/13mmHg. Otrzymano 3,54g (*S*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu, co stanowi 93% wydajności.

Przykład 11

Hydroliza octanu (*R*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu


5g (58,39 mmol) octanu (*R*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu mieszano przez godzinę w temperaturze pokojowej z 25 mL metanolu i 10 mL 2N roztworu NaOH, po czym odparowano rozpuszczalnik na wyparce obrotowej pod zmniejszonym ciśnieniem i zakwaszono kwasem octowym do odczynu kwaśnego (pH = 4). Produkt wyekstrahowano octanem etylu i po odparowaniu rozpuszczalnika destylowano pod zmniejszonym ciśnieniem, zbierając frakcję w temperaturze 111-112°C/13mmHg. Otrzymano 3,42g (*R*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu, co stanowi 91,5% wydajności.

Przykład 12

Hydroliza benzoesu (*S*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu

5g (21,43 mmol) benzoesu (*S*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu otrzymanego zgodnie z przykładem 9 mieszano przez godzinę w temperaturze pokojowej z 25 mL metanolu i 10 mL 2N roztworu NaOH, po czym odparowano rozpuszczalnik na wyparce obrotowej pod zmniejszonym ciśnieniem, a pozostałość zakwaszono kwasem octowym do odczynu kwaśnego (pH = 5). Produkt wyekstrahowano octanem etylu i po odparowaniu rozpuszczalnika destylowano pod zmniejszonym ciśnieniem, zbierając frakcję w temperaturze 110-112°C/13mmHg. Otrzymano 2,55g (*S*)-2-(1-metylo-2-pirolidyno)etanolu, co stanowi 92,4% wydajności.

RZECZNIK PATENTOWY


dr inż. Grażyna Padée