



Industria y Comercio

SUPERINTENDENCIA

OPD

Delegatura de Propiedad Industrial

División de Nuevas Creaciones

PCT

SOLICITUD

PATENTE DE INVENCION

21. EXPEDIENTE No.

05-21991

54. TITULO

METODO PARA LA SEPARACION DE INTERMEDIARIOS QUE PUEDE

SER UTILIZADOS PARA LA PREPARACION DE ESCITALOPRAM

51. CLASIFICACION INTERNACIONAL

71. SOLICITANTE

H. LUDBECK A/S.

DOMICILIO

Valby-Copenhagen, Dinamarca.

74. APODERADO

EMILIO FERRERO

22. BOGOTA, D.C.,

C.C. 438.019 de Usaquén.



Industria y Comercio
SUPERINTENDENCIA

PETITORIO

SUPERINTENDENCIA
Modificación: 00021991 6/00/0000 Folios: 234
Fecha (IMP): 2005-03-09 17:45:16
Tramite: 011 PCT-PROTENT 3/3 FASE NACL 411 PRESENCIAL
Dependencia: 2020 DIVISION DE MARCAS CREACIONES

**FORMULARIO UNICO DE SOLICITUD DE PATENTE
PCT
ENTRADA EN FASE NACIONAL**

12-Marzo-2005

SOLICITUD DE:

1

☒ Patente de Invención.☐ Patente de Modelo de Utilidad.☐ Capítulo I.☒ Capítulo II.

2

**SOLICITANTE
(71)**

Nombre: **H. LUNDBECK A/S**
sociedad constituida y existente bajo las
leyes de Dinamarca
Dirección: 9, Ottilavej,
DK-2500 Valby-Copenhagen,
Dinamarca
Domicilio: Valby-Copenhagen, Dinamarca

IDENTIFICACION

C.C. ☐ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual _____
Número: _____

3

**REPRESENTANTE
O APODERADO**

Nombre: **EMILIO FERRERO**
Dirección: Carrera 4ª. No. 72-35
Teléfono: 347 36 11
Fax: 217 92 11
E-mail: clientes@camyp.com.
Domicilio: Bogotá, Colombia.

IDENTIFICACION

C.C. ☒ NIT ☐
C.E. ☐ Otro ☐
Cual _____
Número: 438.019 T.P. 31.929

4

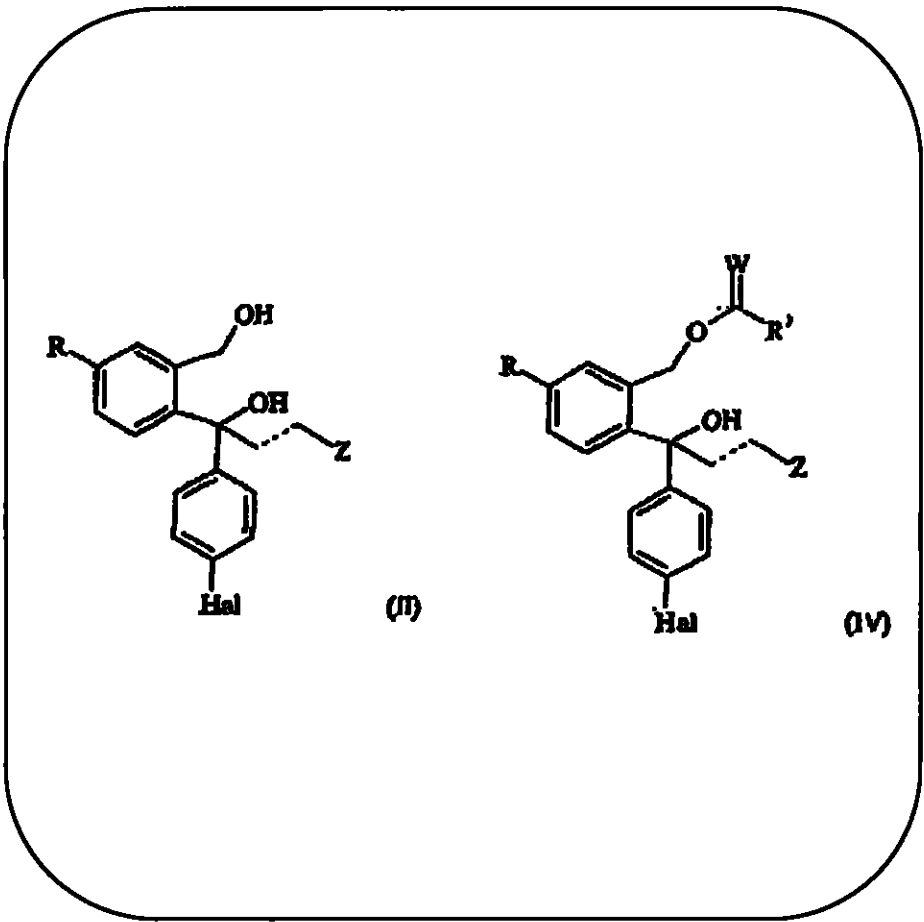
**INVENTOR (ES)
(72)**

- | | |
|--|---|
| 1. Naoaki TAOKA
1-1-1210, Dousyoudai 1-chome,
Suma-ku,
Kobe, Hyogo 654-0122,
Japón | 2. Takahisa KATO
51-2-205, Kokubo,
Akashi, Hyogo 673-0005,
Japón |
| 3. Shogo YAMAMOTO
Sanseiso,
31-17, Shioyacho 6-chome, Tarumi-ku,
Japón | 4. Takashi YOSHIDA
Sanseiso,
31-17, Shioyacho 6-chome, Tarumi-ku,
Japón |
| 5. Tooshihiro TAKEDA
11-7, Ihozakiminami,
Takasago, Hyogo 678-0078,
Japón | 6. Yasuyoshi UEDA
140-15, Waku, Aboshi-ku,
Himeji, Hyogo 671-1227,
Japón |
| 7. Hans PETERSEN
Guldagervej 11,
DK-2720 Varløse,
Dinamarca | 8. Robert DANCER
Sønderkær 53,
DK-2650 Hvidovre,
Dinamarca |
| 9. Haleh AHMADIAN
Digeparken 12,
DK-2880 Solrød Strand,
Dinamarca | 10. Lars Ole LYNGSØ
Aldershvilevej 121A, st. th.
DK-2880 Bagsværd,
Dinamarca |

5	PCT (86) Solicitud Internacional No. <u>PCT/DK2003/000537</u> Fecha: <u>12 de agosto de 2003</u> Publicación Internacional No. <u>WO 2004/014821 A1</u> Fecha: <u>19 de febrero de 2004</u>			
6	Título (54) MÉTODO PARA LA SEPARACIÓN DE INTERMEDIARIOS QUE PUEDEN SER UTILIZADOS PARA LA PREPARACIÓN DE ESCITALOPRAM			
7	Clasificación Internacional (51) <u>AGIK 31/349</u> <u>C07B 57/00, C07D 307/87, C07C 255/53, 253/34</u>			
8	Prioridad SI ☒ NO ☐	(33) País de Origen <u>DK</u>	(32) Fecha <u>12 de agosto de 2002</u>	(31) Número de Solicitud <u>PA 2002 01201</u>
9	Comprobante de pago No.: <u>05- 16.942</u> Fecha: <u>07 de marzo de 2005</u>			
10	Anexos: ☒ Comprobante de pago de la tasa de presentación de la solicitud por \$ 443.000.00. ☐ Comprobante de pago por reivindicación de prioridad. ☒ Documento que acredita la existencia y representación legal cuando el solicitante sea persona jurídica. ☒ Poderes, si fuere el caso. ☐ Documento de cesión del inventor al solicitante o a su causante. ☐ Declaraciones. ☒ Copia de la solicitud internacional. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos) ☒ Traducción de la solicitud internacional al castellano. (Resumen, descripción, reivindicaciones, dibujos) ☒ Copia del examen preliminar efectuado por la IPEA. ☒ Traducción del examen preliminar efectuado por la IPEA. ☐ De ser el caso, copia del contrato de acceso. ☐ De ser el caso, documento que acredite la licencia o autorización de uso de conocimientos tradicionales de las comunidades indígenas. ☐ De ser el caso, certificado de depósito del material biológico. ☒ Arte final 12x12 ☐ De ser el caso, información sobre otras solicitudes de patente o títulos obtenidos en el extranjero por el mismo titular o su causante, relacionadas parcial o totalmente con la invención de esta solicitud. ☐ Otros			

11

FIGURA CARACTERISTICA:



12

Solicito la concesión de la patente,

NOMBRE: EMILIO FERRERO

FIRMA: *Emilio Ferrero*
C.C. 438.019 de Usaquén T.P. 31.929

DLM

4

(12) INTERNATIONAL APPLICATION PUBLISHED UNDER THE PATENT COOPERATION TREATY (PCT)

(19) World Intellectual Property
Organization
International Bureau



(43) International Publication Date
19 February 2004 (19.02.2004)

PCT

(10) International Publication Number
WO 2004/014821 A1

(51) International Patent Classification⁷: C07B 57/00,
C07D 307/87, C07C 255/53, 253/34

(21) International Application Number:
PCT/DK2003/000537

(22) International Filing Date: 12 August 2003 (12.08.2003)

(25) Filing Language: English

(26) Publication Language: English

(30) Priority Data:
PA 2002 01201 12 August 2002 (12.08.2002) DK
60/403,088 12 August 2002 (12.08.2002) US

(71) Applicant (for all designated States except US): H.
LUNDBECK A/S [DK/DK]; Ootilavej 9, DK-2500
Valby-Copenhagen (DK).

(72) Inventors; and

(75) Inventors/Applicants (for US only): TAOKA, Naoki
[JP/JP]; 1-1-1210, Dousyoudai 1-chome, Suma-ku, Kobe,
Hyogo 654-0122 (JP). KATO, Takahisa [JP/JP]; 51-2-205,
Kokubo, Akashi, Hyogo 673-0005 (JP). YAMAMOTO,
Shogo [JP/JP]; Sanseiso, 31-17, Shiroyacho, 6-chome,
Tsurumi-ku, Kobe, Hyogo 655-0872 (JP). YOSHIDA,
Takashi [JP/JP]; Sanseiso, 31-17, Shiroyacho, 6-chome,
Tsurumi-ku, Kobe, Hyogo 655-0872 (JP). TAKEDA,
Toshihiro [JP/JP]; 11-7, Ihozakiminami, Takasago, Hyogo
676-0078 (JP). UKEDA, Yasuyoshi [JP/JP]; 140-15, Waku,
Aboahi-ku, Himeji, Hyogo 671-1227 (JP). PETERSEN,

Hans [DK/DK]; Guldagervej 11, DK-2720 Vanløse (DK).
DANCER, Robert [AU/DK]; Sønderker 53, DK-2650
Hvidovre (DK). AHMADIAN, Haleh [DK/DK]; Di-
geparben 12, DK-2680 Solrød Strand (DK). LYNGBØ,
Lars, Ole [DK/DK]; Aldershvidevej 121A, st.th., DK-2880
Bagved (DK).

(81) Designated States (national): AE, AG, AL, AM, AT (uti-
lity model), AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA,
CH, CN, CO, CR, CU, CZ (utility model), CZ, DE (uti-
lity model), DE, DK (utility model), DK, DM, DZ, EC, EE
(utility model), EE, ES, FI (utility model), FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ,
LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN,
MW, MX, MZ, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO,
RU, SC, SD, SE, SG, SK (utility model), SK, SL, SY, TJ,
TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA,
ZM, ZW.

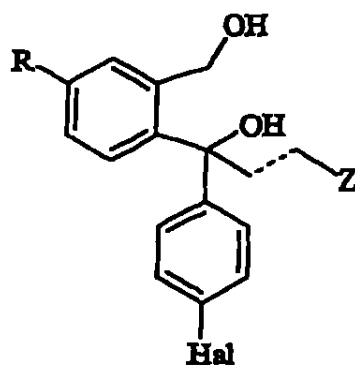
(84) Designated States (regional): ARIPO patent (GH, GM,
KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW),
Eurasian patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM),
European patent (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE,
ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO,
SE, SI, SK, TR), OAPI patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Published:

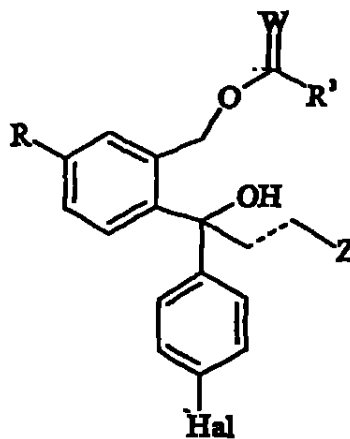
— with international search report

For two-letter codes and other abbreviations, refer to the "Guid-
ance Notes on Codes and Abbreviations" appearing at the begin-
ning of each regular issue of the PCT Gazette.

(54) Title: METHOD FOR THE SEPARATION OF INTERMEDIATES WHICH MAY BE USED FOR THE PREPARATION OF
ESCITALOPRAM



(II)



(IV)

(57) Abstract: The present invention relates to a novel method for the preparation of diol intermediates having the formula (II) and/or the opposite enantiomer of an acylated diol having the formula (IV) useful for the preparation of escitalopram involving selective enzymatic acylation or deacylation.

WO 2004/014821 A1

Method for the separation of intermediates which may be used for the preparation of escitalopram

The present invention relates to a novel method for the preparation of optically active intermediates useful for the preparation of escitalopram involving selective enzymatic acylation or deacylation.

Background of the invention

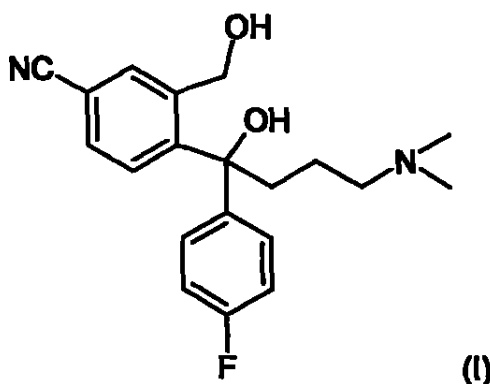
Citalopram is a well-known antidepressant drug that has now been on the market for some years.

It is a selective, centrally acting serotonin (5-hydroxytryptamine; 5-HT) reuptake inhibitor, accordingly having antidepressant activities.

Citalopram was first disclosed in DE 2,657,013, corresponding to US 4,136,193. This patent publication i.a. outlines a process for preparation of citalopram from the corresponding 5-bromo-derivative by reaction with cuprous cyanide in a suitable solvent and by alkylation of 5-bromo-phthalane.

US Patent No 4,943,590 corresponding to EP-B1-347 066 describes two processes for the preparation of escitalopram (S-enantiomer of citalopram).

Both processes use the racemic diol having the formula



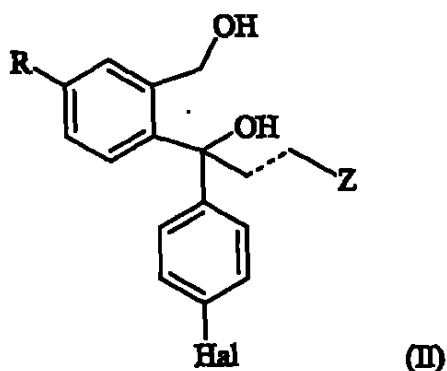
as starting material. According to the first process, the diol of formula (I) is reacted with an enantiomerically pure acid derivative, such as (+) or (-)- α -methoxy- α -trifluoromethyl-phenylacetyl chloride to form a mixture of diastereomeric esters, which are separated by HPLC or fractional crystallization, whereupon the ester with the correct stereochemistry is enantioselectively converted into escitalopram. According to the second process, the diol of formula (II) is separated into the enantiomers by stereoselective crystallization with an enantiomerically pure acid such as (+)-di-*p*-toluoyltartaric acid, whereupon the S-enantiomer of the diol of the formula (A) is enantioselectively converted to escitalopram.

Escitalopram has now been developed as an antidepressant. Hence, there is a desire for an improved method for preparation of escitalopram.

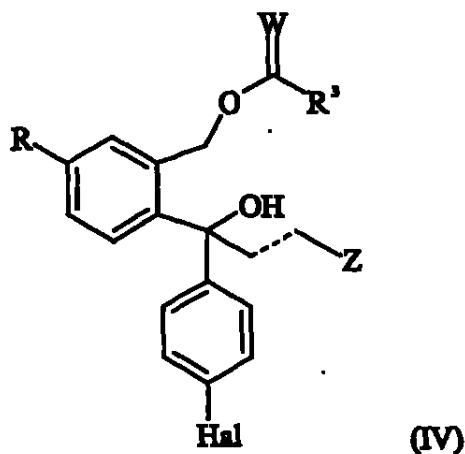
It has now been found that the S-enantiomer of the diol of formula (I) above as well as acylated derivatives thereof may be prepared by selective enzymatic acylation of the primary hydroxyl group in the racemic diol to obtain S-diol or an acylated derivative thereof with high optical purity and further that the enantiomers obtained may be separated by a series of isolation and purification operations.

20 The invention

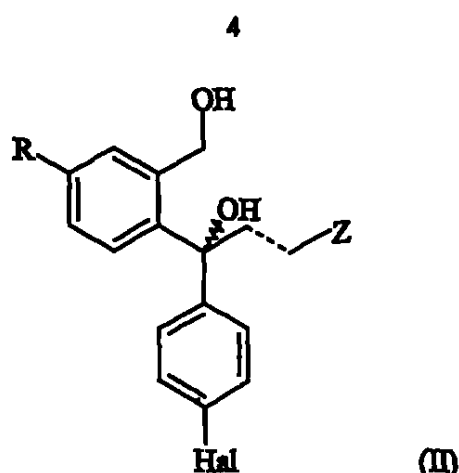
Accordingly, the present invention relates to a novel process for the preparation of the S- or R-enantiomer of a diol having the formula



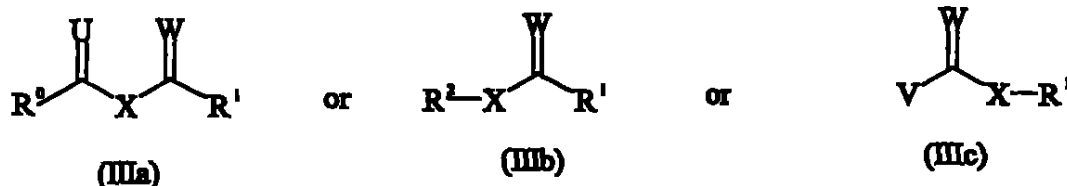
wherein R is cyano or a group which may be converted to a cyano group, Z is a group
 $-\text{CH}_2\text{-N(R'R'')}$ wherein R' and R'' are C₁₋₆-alkyl, or R' and R'' are connected to each
 other to form a cyclic structure including the N-atom to which they are attached, or Z
 is a group which may be converted to a dimethylaminomethyl group, the dotted line
 5 represents a double or a single bond and Hal is halogen or a salt thereof, and/or the
 opposite enantiomer of an acylated diol having the formula



- 10 wherein R, Z, the dotted line and Hal are as defined above, W is O or S, and R³ is
 $-\text{Y-R}^1$, wherein R¹ is C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl or C₂₋₁₀-alkynyl all of which may
 optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₁₀-
 alkoxy, C₁₋₁₀-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₁₀-alkylamino, di-
 (C₁₋₁₀-alkyl)amino, aryl, aryloxy, arylthio and heteroaryl, or R¹ is aryl; wherein any
 15 of the aryl and heteroaryl groups may optionally be substituted one or more times
 with substituents selected from C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl, C₂₋₁₀-alkynyl, C₁₋₁₀-alkoxy,
 C₁₋₁₀-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₁₀-alkylamino and di-(C₁₋₁₀-
 alkyl)amino and Y is a bond, O, S or NH, or a salt thereof, comprising
- 20 a) subjecting a racemic compound of formula



wherein R, Z, the dotted line and Hal are as defined above, to selective enzymatic acylation using an acylating agent having the formula



or an isocyanate having the formula $\text{R}^1\text{-N=C=O}$ or an isothiocyanate having the formula $\text{R}^1\text{-N=C=S}$;

wherein X is O or S; W is O or S; U is O or S, V is halogen and

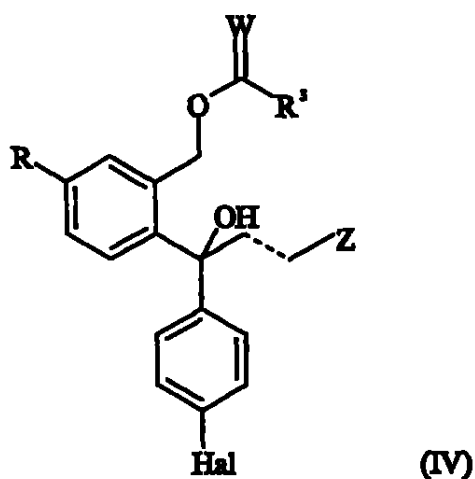
R^0 is C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl or C_{2-10} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino, di- $(\text{C}_{1-10}$ -alkyl)amino, aryl, aryloxy, arylthio and heteroaryl, or R^0 is aryl, wherein any of the aryl and heteroaryl groups may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl, C_{2-10} -alkynyl, C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino and di- $(\text{C}_{1-10}$ -alkyl)amino;

R^1 is as defined for R^0 ;

R^2 is as defined for R^0 , or R^2 is a suitable leaving group;

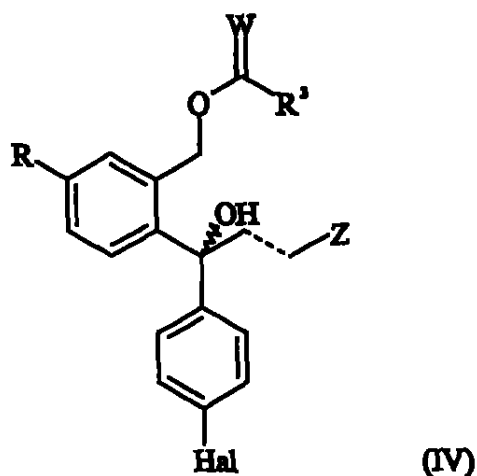
or R^0 and R^1 together form a chain of 3 to 5 carbon atoms;

provided that W and U are not S when X is S; to form a mixture of the starting material of formula (II) in either the R- or the S-form and the opposite enantiomer of
5 the acylated diol having the formula

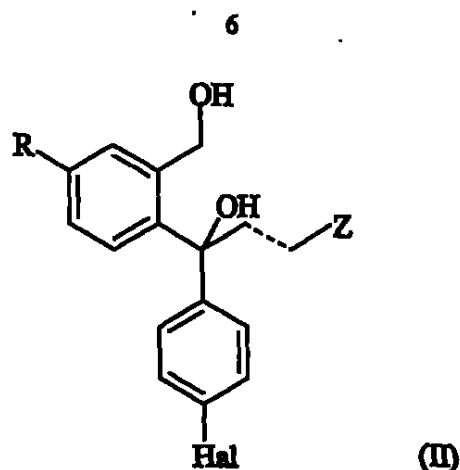


wherein R, W, Hal, R^3 , the dotted line and Z are as defined above; or

10 b) subjecting a racemic compound of formula



wherein R, Z, W, Hal, the dotted line and R^3 are as defined above; to selective
15 enzymatic deacylation to form a mixture of deacylated compound of formula



wherein R, Hal, the dotted line and Z are as defined above in either the R- or the S-form and the acylated starting material of formula (IV) in the form of the opposite enantiomer,

5

optionally followed by, in either order, isolation of the S- or R-enantiomer of the compound of formula (II) and/or the opposite enantiomer of the compound of formula (IV) or a salt thereof.

- 10 The invention also relates to methods for the separation of mixtures of an enantiomer of formula (IV) from the opposite enantiomer of formula (II) and to the R- and S-enantiomers of the compounds of formula (IV) above.

- 15 Finally, the invention relates to a method for the preparation of escitalopram and racemic citalopram from the enantiomers of a compound of formula (II) obtained by the selective enzymatic acylation or deacylation according to the invention, or the enantiomers of the optically active acyl derivative of formula (IV) obtained by the selective enzymatic acylation or deacylation according to the invention.

20 Detailed description of the invention

- When used in connection with the compounds of formula (II), (IV) and (V), the terms "enantiomer", "R-enantiomer", "S-enantiomer", "R-form", "S-form", "R-diol" and "S-diol" refer to the orientation of the groups around the carbon atom to which the 4-Hal-phenyl group is attached.
- 25

The present invention thus relates in one embodiment to a selective enzymatic acylation as above and in another embodiment to selective enzymatic deacylation as above.

- 5 **Selective enzymatic acylation means that the enzymatic acylation is preferentially effective for conversion of one of the enantiomers of a compound of formula (II) preferentially leaving the other enantiomer of the compound of formula (II) unconverted in the reaction mixture.**
- 10 **Selective enzymatic deacylation means that the enzymatic deacylation is preferentially effective for conversion of one of the enantiomers of a compound of formula (IV), preferentially leaving the other enantiomer of the compound of formula (IV) unconverted in the reaction mixture.**
- 15 **The selective acylation according to the invention thus results in a mixture containing preferentially the compound of formula (II) in the S-form and the compound of formula (IV) in the R-form, or it may result in a mixture containing preferentially the compound of formula (II) in the R-form and the compound of formula (IV) in the S-form.**
- 20 **Likewise, the selective enzymatic deacylation may result in a mixture containing preferentially the compound of formula (IV) in the S-form and the compound of formula (II) in the R-form, or it may result in a mixture containing preferentially the compound of formula (IV) in the R-form and the compound of formula (II) in the S-**
- 25 **form.**

- The composition mixture obtained after acylation or deacylation according to the invention depend on the specific hydrolase used and the conditions under which the reaction is carried out. Characteristic of the enzymatic acylation/deacylation**
- 30 **according to the invention is that a considerably larger portion of one enantiomer is converted than of the other. The optical purity of the diol of formula (II) and/or the acylated compound of formula (IV) obtained by the optical resolution method of the present invention is usually at least 90% ee, preferably at least 95% ee, more**

preferably at least 97% ee and most preferably at least 98% ee. However, lower values for the optical purity are acceptable.

The starting material for the enzymatic method of the invention is a racemic diol of
5 formula (II) or a racemic acyl derivative of formula (IV)

In a preferred embodiment of the invention R is halogen or cyano, most preferred cyano.

10 In a further preferred embodiment of the invention Hal is fluoro,

In a further embodiment of the invention, the dotted line in formula (II) and (IV) is a single bond.

15 In one embodiment Z is dimethylaminomethyl or a group that may be converted to dimethylaminomethyl. In a suitable embodiment Z is dimethylaminomethyl.

Most preferred, Hal is fluoro, R is cyano, the dotted line is a single bond and Z is dimethylaminomethyl.

20

The acylating agent used for the enzymatic acylation according to the invention may suitable be one of the compounds of formula (IIIa), (IIIb) and (IIIc).

In another embodiment the acylating agent used according to the invention is any of
25 the compounds of formula (IIIa) and (IIIb).

According to a further embodiment of the invention, the acylating agent used is a compound of formula (IIIa).

30 According to a still another embodiment of the invention, the acylating agent used is a compound of formula (IIIb).

According to another embodiment of the invention the acylating agent is a compound of formula (IIIc).

When the acylating agent is a compound of formula (IIIa), U is suitable O.

When the acylating agent is any of the above, W is suitable O.

5

When the acylating agent is any of the above, X is suitable O.

Suitable, the substituents R^0 , R^1 and R^2 in any of the acylating agents (IIIa), (IIIb) and (IIIc) defined in any of the embodiments above are as follows:

- R^0 , R^1 and R^2 are independently selected from C_{1-6} -alkyl, C_{2-6} -alkenyl and C_{2-6} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-6} -alkoxy, C_{1-6} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-6} -alkylamino and di- $(C_{1-6}$ -alkyl)amino or R^2 is a suitable leaving group, such as succinimidyl, HOBt and pfp, or R^0 and R^1 together form a chain of 3-5 carbon atoms more suitable R^0 , R^1 and R^2 are independently selected from C_{1-4} -alkyl, C_{2-4} -alkenyl and C_{2-4} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-4} -alkoxy, C_{1-4} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-4} -alkylamino and di- $(C_{1-4}$ -alkyl)amino or R^2 is a suitable leaving group, such as succinimidyl, HOBt and pfp or R^0 and R^1 together form a chain of 3-5 carbon atoms, more preferred R^0 , R^1 and R^2 are independently selected from C_{1-3} -alkyl, C_{2-3} -alkenyl and C_{2-3} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-3} -alkoxy, C_{1-3} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-3} -alkylamino and di- $(C_{1-3}$ -alkyl)amino, even more preferred R^0 and R^1 is C_{1-3} -alkyl, in particular unbranched C_{1-3} -alkyl and R^2 is C_{1-3} -alkyl substituted one or more times with halogen or R^2 is C_{2-3} -alkenyl.

25

Suitably, the substituents R^0 and R^1 in acylating agents of formula (IIIa) as defined in any of the embodiments above, are as follows:

- R^0 and R^1 are independently selected from C_{1-6} -alkyl, C_{2-6} -alkenyl and C_{2-6} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-6} -alkoxy, C_{1-6} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-6} -alkylamino and di- $(C_{1-6}$ -alkyl)amino, more suitable R^0 and R^1 are independently selected from C_{1-4} -alkyl, C_{2-4} -alkenyl and C_{2-4} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-4} -alkoxy, C_{1-4} -

30

alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₄-alkylamino and di-(C₁₋₄-alkyl)amino, preferably R⁰ and R¹ are independently selected from C₁₋₃-alkyl, C₂₋₃-alkenyl and C₂₋₃-alkynyl all of which may all optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₃-alkoxy, C₁₋₃-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₃-alkylamino and di-(C₁₋₃-alkyl)amino, more preferred R⁰ and R¹ are independently C₁₋₄-alkyl and most preferred, and most preferred R⁰ and R¹ is C₁₋₃-alkyl, in particular unbranched C₁₋₃-alkyl, suitable propyl.

Suitably, the substituents R¹ and R² in acylating reagents of formula (IIIb) as defined in any of the embodiments above, are as follows:

R¹ and R² are independently selected from C₁₋₆-alkyl, C₂₋₆-alkenyl and C₂₋₆-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₆-alkoxy, C₁₋₆-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₆-alkylamino and di-(C₁₋₆-alkyl)amino or R² is another leaving group, such as succinimidyl, HOBt and pfp, more suitable R¹ and R² are independently selected from C₁₋₄-alkyl, C₂₋₄-alkenyl and C₂₋₄-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₄-alkoxy, C₁₋₄-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₄-alkylamino and di-(C₁₋₄-alkyl)amino or R² is another leaving group, such as succinimidyl, HOBt and pfp, preferably R¹ is selected from C₁₋₃-alkyl, C₂₋₃-alkenyl and C₂₋₃-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₃-alkoxy, C₁₋₃-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₃-alkylamino and di-(C₁₋₃-alkyl)amino and R² is C₁₋₄-alkyl substituted one or more times with halogen, R² is C₂₋₄-alkenyl or R² is another leaving group, such as succinimidyl, HOBt and pfp, more preferred R¹ is C₁₋₃-alkyl, C₂₋₃-alkenyl or C₂₋₃-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₃-alkoxy, C₁₋₃-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₃-alkylamino and di-(C₁₋₃-alkyl)amino and R² is C₁₋₃-alkyl substituted one or more times with halogen or R² is C₂₋₃-alkenyl, still more preferred R¹ is C₁₋₃-alkyl and R² is C₁₋₃-alkyl substituted one or more times with halogen or R² is C₂₋₃-alkenyl, and more suitable R¹ is C₁₋₃-alkyl, in particular unbranched C₁₋₃-alkyl, such as methyl, ethyl or propyl and R² is C₂₋₃-alkenyl.

R^2 meaning C_{1-3} -alkyl substituted one or more times with halogen is a suitable leaving group including groups such as 2,2,2-trichloroethyl and 2,2,2-trifluoroethyl, in particular 2,2,2-trifluoroethyl.

- 5 In a specific embodiment of the invention, the acylating agent of formula (IIIb) as above is a compound wherein R^2 is vinyl.

According to another specific embodiment of the invention, the acylating agent of formula (IIIb) is a compound as above wherein R^1 is propyl. This specific
10 embodiment covers a preferred acylating agent of the invention, namely vinyl butyrate.

- 15 According to a further embodiment of the invention, the acylating agent is a compound of formula (IIIc).

Suitably, the substituent R^1 in the compound of formula (IIIc) as defined in any of the embodiments above, are as follows:

- 20 R^1 is C_{1-6} -alkyl, C_{2-6} -alkenyl and C_{2-6} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-6} -alkoxy, C_{1-6} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-4} -alkylamino and di- $(C_{1-6}$ -alkyl)amino, more suitable R^1 is C_{1-4} -alkyl, C_{2-4} -alkenyl and C_{2-4} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-4} -
25 alkoxy, C_{1-4} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-4} -alkylamino and di- $(C_{1-4}$ -alkyl)amino, preferably R^1 is C_{1-3} -alkyl, C_{2-3} -alkenyl and C_{2-3} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with C_{1-3} -alkoxy, C_{1-3} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-3} -alkylamino and di- $(C_{1-3}$ -alkyl)amino, more preferred R^1 is C_{1-3} -alkyl, C_{2-3} -alkenyl or C_{2-3} -alkynyl, and more
30 suitable suitable R^1 is C_{1-3} -alkyl, in particular unbranched C_{1-3} -alkyl, such as methyl, ethyl or propyl.

V is suitable chloro.

The acylating agent used according to the invention may also be an isocyanate of formula $R^1-N=C=O$ or an isothiocyanate of the formula $R^1-N=C=S$.

Thus, in a further embodiment of the invention, the acylating agent is an
5 isothiocyanate of the formula $R^1-N=C=O$.

According to another embodiment of the invention, the acylating agent is an isocyanate of formula $R^1-N=C=S$.

- 10 Suitably, the substituent R^1 in the isocyanate and the isothiocyanate as defined in any of the embodiments above, are as follows:
 R^1 is C_{1-6} -alkyl, C_{2-6} -alkenyl or C_{2-6} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-6} -alkoxy, C_{1-6} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-4} -alkylamino and di- $(C_{1-6}$ -alkyl)amino,
15 more suitable R^1 is C_{1-4} -alkyl, C_{2-4} -alkenyl or C_{2-4} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-4} -alkoxy, C_{1-4} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-4} -alkylamino and di- $(C_{1-4}$ -alkyl)amino, preferably R^1 is C_{1-3} -alkyl, C_{2-3} -alkenyl or C_{2-3} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with C_{1-3} -alkoxy, C_{1-3} -alkylthio, hydroxy,
20 halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-3} -alkylamino and di- $(C_{1-3}$ -alkyl)amino, more preferred R^1 is C_{1-3} -alkyl, C_{2-3} -alkenyl or C_{2-3} -alkynyl, and more suitable R^1 is C_{1-3} -alkyl, in particular unbranched C_{1-3} -alkyl, such as methyl, ethyl or propyl

The invention also covers a method for selective enzymatic deacylation of a racemic
25 compound of formula (IV) as defined above.

Suitable, the racemic compound of formula (IV) used, is a compound wherein Y is O, or S.

30 According to a further embodiment the racemic compound of formula (IV) used, is a compound wherein Y is O.

In still another embodiment of the invention the racemic compound of formula (IV) used is a compound wherein Y is S.

17

In another embodiment of the invention the racemic compound of formula (IV) used is a compound wherein Y is a bond.

- 5 Suitably, the substituent R^1 in the racemic compound (IV) as defined in any of the embodiments above, is as follows: C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl or C_{2-10} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino and di- $(C_{1-10}$ -alkyl)amino, more suitable R^1 is C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl or
- 10 C_{2-10} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from hydroxy, halogen, amino, nitro and cyano, preferably R^1 is C_{1-10} -alkyl, preferably unbranched C_{1-10} -alkyl and more preferred R^1 is unbranched C_{4-10} -alkyl.
- 15 According to the invention, selective enzymatic acylation is carried out under conditions substantially suppressing hydrolysis. Hydrolysis, which is the reverse reaction of the acylation reaction, takes place if water is present in the reaction system.
- 20 Thus, selective enzymatic acylation is preferably carried out in a water-free organic solvent or almost anhydrous organic solvent (enzymes normally require the presence of some water to be active). The examples below, illustrate how addition of water affects conversion. The percentage of water allowed in a particular reaction system, may be determined by a person skilled in the art.
- 25 The organic solvent which may be used for the acylation reaction, is not particularly important as long as it does not deactivate the enzyme used. Suitable solvents include hydrocarbons such as hexane, heptane, benzene and toluene; ethers such as diethyl ether, diisopropyl ether, tetrahydrofuran, 1,4-dioxane, tert-butyl methyl ether and
- 30 dimethoxyethane; ketones such as acetone, diethyl ketone, butanone, and methyl ethyl ketone; esters such as methyl acetate, ethyl acetate, ethyl butyrate, vinyl butyrate and ethyl benzoate; halogenated hydrocarbons such as methylene chloride, chloroform and 1,1,1-trichloroethane; secondary and tertiary alcohols, such as tert-butanol; nitrogen-containing solvents such as dimethylformamide, acetoamide, formamide,

acetonitrile and propionitrile; and aprotic polar solvents such as dimethylsulfoxide, N-methylpyrrolidone and hexamethylphosphorous triamide.

Among them, hydrocarbons such as hexane, heptane, benzene and toluene, ethers
 5 such as diethyl ether, diisopropyl ether, 1,4-dioxane and tert-butyl methyl ether and
 esters such as vinyl butyrate, are preferred. For one enzymes the most preferred
 solvents may be aromatic hydrocarbons such as benzene or toluene and ethers, most
 preferred toluene and for another enzyme the most preferred solvents may be ethers
 such as 1,4-dioxane (see the examples below). The above solvents may be used singly
 10 or in a combination of two or more solvents.

The concentration of racemic diol of formula (II) and acylating agent should not be
 too high as a high concentration of reagents in the solvent may lead to non-selective
 acylation of the racemic diol. Suitable the concentration of racemic diol and acylating
 15 reagent is each below 1,0 M, more suitable below 0,5 M, even more suitable below
 0,2 M or even more suitable below 0,1 M. A person skilled in the art will be able to
 determine the optimal concentration of racemic diol and acylating agent.

Selective enzymatic deacylation is preferably carried out in water or a mixture of
 20 water and an organic solvent, suitable in presence of a buffer. The organic solvent
 which may be used in the reaction, is not particularly important as long as it does not
 deactivate the enzyme used. Suitable organic solvents are solvents miscible with
 water such as alcohols, acetonitrile, DMF, DMSO, dioxane, DME and diglyme. The
 skilled person will be able to identify other suitable solvents. A person skilled in the
 25 art will be able to determine the optimal concentration of racemic compound of
 formula (IV) used in the reaction

The stereoselectivity of the enzyme used, may be increased by carrying out the
 acylation or deacylation in presence of an organic acid and /or an organic base.

30

Accordingly, the present invention also relates to a process wherein the enzymatic
 acylation or the enzymatic deacylation is carried out in presence of an organic base or
 an organic acid or a mixture thereof.

In a particular embodiment, the invention relates to a process wherein the enzymatic acylation or enzymatic deacylation is carried out in the presence of an organic acid, suitable an organic carboxylic acid.

- 5 In a further embodiment, the enzymatic acylation is carried out in presence of an organic acid, suitable an organic carboxylic acid.

Suitable the above mentioned organic acid is an aromatic carboxylic acid or an aliphatic carboxylic acid.

10

- As an organic acid which may be used in the reaction, there may be mentioned, alkyl carboxylic acids, cycloalkylcarboxylic acids, cycloalkylalkylcarboxylic acids, optionally substituted phenyl-alkylcarboxylic acids and optionally substituted phenylcarboxylic acids. Suitable aliphatic carboxylic acids, are carboxylic acids such
15 as formic acid, acetic acid, propionic acid, n-butyric acid, iso-butyric acid, 2-ethylbutyric acid, n-valeric acid, iso-valeric acid, pivalic acid, n-caproic acid, iso-caproic acid, decanoic acid, crotonic acid, palmitic acid, cyclopentanecarboxylic acid, cyclohexanecarboxylic acid, phenyl-C₁₋₄-alkylcarboxylic acids such as 3-phenylpropionic acid, 4-phenylbutyric acid, oxalic acid, malonic acid and tartaric
20 acid. Suitable aromatic carboxylic acids, includes acids such as benzoic acid, p-chlorobenzoic acid, p-nitrobenzoic acid, p-methoxybenzoic acid, p-toluic acid, o-toluic acid, m-toluic acid, naphthoic acid, phthalic acid and terephthalic acid, salicylic acid, hydrocinnamic acid for instance.

- 25 Thus, according to one embodiment of the invention, the organic acid used to improve stereoselectivity of the enzyme is selected from n-propionic acid, iso-propionic acid, n-butyric acid, iso-butyric acid, iso-valeric acid, 2-ethylbutyric acid, crotonic acid, palmitic acid, cyclohexanecarboxylic acid, pivalic acid, benzoic acid and p-toluic acid, salicylic acid and 3-phenylpropionic acid. According to a further
30 embodiment of the invention, the carboxylic acid used is pivalic acid.

The amount of the organic acid to be used is not particularly restricted, but the molar ratio relative to a substrate is usually 0.1 to 10, preferably 1.0 to 3.0, and more preferably 1.0 to 2.0.

Alternatively, a tertiary amine may be used to improve selectivity of the enzyme, either alone or together with any of the above mentioned organic acid. As suitable organic base there may be mentioned, triethyl amine, pyridine, 4-
5 dimethylaminopyridine and pyridine is preferred. Suitable combinations of organic acid and organic base are benzoic acid and pyridine for example.

The amount of the tertiary amine to be used is not particularly restricted, but the molar ratio relative to a substrate is usually 0.5 to 3.0, and preferably 0.5 to 2.0.

10

The enzymatic acylation or deacylation according to the invention is carried out using a hydrolase, such as a lipase, an esterase, an acylase or a protease.

Thus, according to one embodiment of the invention, enzymatic *acylation*
15 is performed with a hydrolase, such as a lipase, an esterase, an acylase or a protease. The enzymes useful according to the invention are such enzymes capable of performing R-selective acylation or S-selective acylation of the primary hydroxy group in the racemic compound of formula (II).

20 According to another embodiment of the invention, enzymatic *deacylation* is performed with a hydrolase, such as a lipase, an esterase, an acylase or a protease. The enzymes useful according to the invention are such enzymes capable of performing R-selective deacylation or S-selective deacylation of the acyl group in the racemic compound of formula (IV).

25

As used herein "hydrolase" and "enzyme" either generally or in relation to a specific enzyme, means not only the enzyme itself, but also cultured products containing the enzyme, such as culture fluid containing a cell body, or a cultured cell body, and processed product of the cultured product (for example a crude extract, a freeze-dried
30 microorganism or cell, an acetone dried microorganism or cell, a ground product of such microorganism or cell, or the like).

Additionally, the "enzyme" or "hydrolase" may be immobilized as the enzyme itself or as a cell body by known techniques, and may be used in immobilized form. The

immobilization may be carried out by methods known to the person skilled in the art, such methods include, for example carrier bonding, cross linking, encapsulation and the like.

- 5 Thus, in one embodiment of the invention the hydrolase is used in the form of an immobilized enzyme or Cross-Linked Enzyme Crystal (CLEC) enzymes.

- It has been found that enzymatic acylation according to the invention may be carried out using Novozyme 435, from *Candida antarctica*, LipoZyme TL IM from
10 *Thermomyces lanuginosus* or Lipoprotein Lipase *pseudomonas* sp. (isolated from *Pseudomonas Cepacia* and obtained from Fluka), and particularly good results have been found when using Novozyme 435, from *Candida antarctica* or Lipoprotein Lipase *pseudomonas* sp.

- 15 Thus, according to one embodiment of the invention, the enzyme used is *Pseudomonas* sp. lipoprotein lipase, *Candida antarctica* lipase B or *Thermomyces lanuginosus* lipase.

- According to another embodiment of the invention, the enzyme used is *Pseudomonas*
20 sp. lipoprotein lipase or *Candida antarctica* lipase B.

- As mentioned above, use of one of the above mentioned enzymes according to the invention also covers the use of cultured products containing the enzyme, such as culture fluid containing a cell body, or a cultured cell body, processed product of the
25 cultured product and any immobilized forms of these enzymes/cultured products.

- The use of any of the above specifically mentioned enzymes according to the invention also covers the use of mutants, variants or any equivalents of the above specifically mentioned enzymes, which are capable of performing the selective
30 acylation or deacylation according to the invention. The variants or equivalents thereof may be isolated from various strains of *Pseudomonas*, *Candida* or *Thermomyces*, or any other source, or they may be prepared by mutation of the DNA encoding the above mentioned enzymes leading to variations in the amino acid composition of the enzyme. Suitable the mutants or variants of the above mentioned

enzymes are variants and mutants where single amino acids have been removed or replaced by other amino acids, and suitable the amino acid sequence of the variant or mutant is more than 60 % identical, preferably more than 80 % or most preferred more than 90 % identical to the above mentioned enzymes.

5

Thus, according to one embodiment of the invention, the enzyme used is *Pseudomonas* sp. lipoprotein lipase or a mutant or variant thereof. Preferably *Pseudomonas* sp. lipoprotein lipase is used.

- 10 According to another embodiment of the invention, the enzyme used is *Candida antartica* lipase B or a mutant or variant thereof. Preferably, the enzyme used is *Candida antartica* lipase B.

According to a further embodiment of the invention the enzyme is Novozyme®435

- 15 (Candida antartica lipase B immobilized on acrylic resin, available from the company Novozymes A/S).

According to still another embodiment of the invention, the enzyme used is *Thermomyces lanuginosus* lipase or a mutant or variant thereof. Preferably the

20 enzyme used is *Thermomyces lanuginosus* lipase.

According to a further embodiment of the invention, the enzyme used is Lipozyme™ TL IM, also available from the company Novozymes A/S.

- 25 The preferred reaction conditions for enzymatic acylation/deacylation differ depending on the particular enzyme used, whether it is immobilised or not etc.

A suitable temperature for the reaction lies between 0-80 °C, more preferably between 20-60 °C, or more preferred between 30-50 °C.

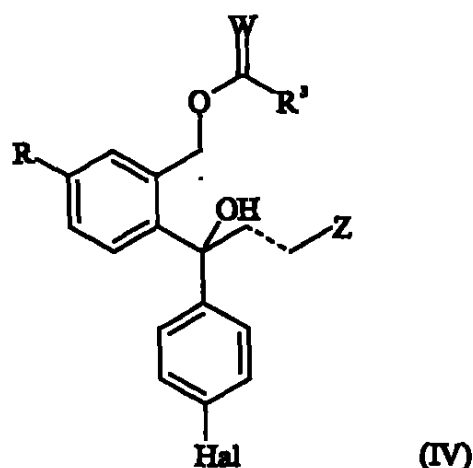
30

The amount of enzyme to be used is not particularly restricted, but is usually 0.01-1.0, preferably 0.02-0.5 and more preferably 0.02-0.3, as weight ratio relative to substrate.

The reaction may be carried as a batch process or it may be carried out as a continuous process. The enzyme may be used in a plurality of batches repeatedly or continuously. The reaction time is not particularly restricted, and will depend on the enzyme used and the scale and type production method (batch or continuous).

5

The present invention also relates to an S- or R-enantiomer of a compound having the formula (IV)



10

wherein R, Hal, R', W, the dotted line and Z are as defined above, or a salt thereof.

According to one embodiment of the invention, the optically active acyl derivative above is the S-enantiomer. According to another embodiment of the invention, the optically active acyl derivative above is the R-enantiomer.

15

According to one embodiment of the invention the R- or S-enantiomer above is a compound wherein R is halogen or cyano, preferably R is cyano.

20

According to a further embodiment of the invention, the R- or S-enantiomer above is a compound wherein Hal is fluoro.

According to a further embodiment of the invention, the R- or S-enantiomer above is a compound wherein the dotted line represents a single bond.

25

24

In another embodiment of the invention, the R- or S-enantiomer above is a compound wherein Z is dimethylaminomethyl or a group that may be converted to dimethylaminomethyl, more suitable Z is dimethylaminomethyl, and the other substituents are as defined above.

5

In another embodiment of the invention, the R- or S-enantiomer above is a compound wherein Z is dimethylaminomethyl, Hal is fluoro, the dotted line represents a single bond, and R is cyano or halogen, suitable cyano.

10 In a further embodiment of the invention, the R- or S-enantiomer above is a compound wherein Y is O, or S, preferably Y is O and the other substituents are as defined above. In a further embodiment of the invention, the R- or S-enantiomer above is a compound wherein Y is S and the other substituents are as defined above.

15 In a further embodiment of the invention, the R- or S-enantiomer above is a compound wherein Y is a bond and the other substituents are as defined above.

In a further embodiment of the invention, the R- or S-enantiomer above is a compound wherein Y is NH and the other substituents are as defined above.

20

Suitable, the R- or S-enantiomer as defined in any of the embodiments above is a compound wherein R¹ is C₁₋₆-alkyl, C₂₋₆-alkenyl or C₂₋₆-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₆-alkoxy, C₁₋₆-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₆-alkylamino and di-(C₁₋₆-alkyl)amino, more suitable R¹ is C₁₋₄-alkyl, C₂₋₄-alkenyl or C₂₋₄-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₄-alkoxy, C₁₋₄-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₄-alkylamino and di-(C₁₋₄-alkyl)amino, preferably R¹ is C₁₋₃-alkyl, C₂₋₃-alkenyl or C₂₋₃-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₃-alkoxy, C₁₋₃-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₃-alkylamino and di-(C₁₋₃-alkyl)amino and most preferred R¹ is C₁₋₃-alkyl, in particular unbranched C₁₋₃-alkyl.

25

30

According to another suitable embodiment of the invention, the R- or S-enantiomer as defined in any of the embodiments above is a compound wherein R¹ is as follows: C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl or C₂₋₁₀-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₁₀-alkoxy, C₁₋₁₀-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₆-alkylamino and di-(C₁₋₁₀-alkyl)amino, more
5 suitable R¹ is C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl or C₂₋₁₀-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from hydroxy, halogen, amino, nitro and cyano, preferably R¹ is C₁₋₁₀-alkyl, preferably unbranched C₁₋₁₀-alkyl and more preferred R¹ is unbranched C₄₋₁₀.

10

After the completion of the acylation reaction or the deacylation reaction, an enantiomer of the diol derivative represented by the formula (II) is obtained as a mixture with the opposite enantiomer of the compound of formula (IV). This reaction mixture is then optionally separated from the enzyme.

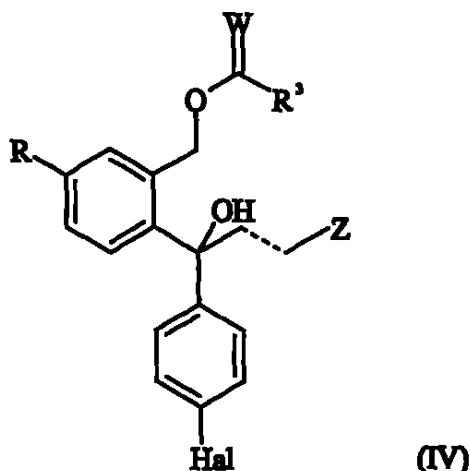
15

In order to obtain the desired enantiomer of formula (II) and/or (IV) with high chemical purity, it is necessary to separate it from the opposite enantiomer of formula (IV) and (II), respectively, in an efficient manner. However, it is difficult to efficiently separate the enantiomers by generally known methods because the
20 structure of the acyl derivative of formula (IV) is so similar to the structure of the diol of formula (II).

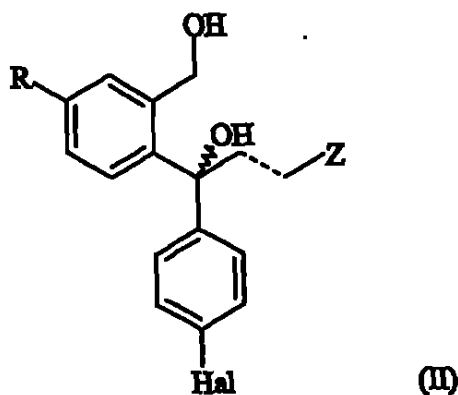
The present inventors have made intensive investigations and have as a result found that the enantiomer of a compound of formula (II) in the form of a salt with an acid is
25 efficiently distributed into an aqueous layer and the opposite enantiomer of a compound of formula (IV) in the form of a salt with the acid is efficiently distributed into an organic layer when the reaction mixture is treated with a mixed solvent containing organic solvent and water in the presence of an acid.

30 Thus, according to another embodiment, the invention relates to a method for the isolation and purification of an acyl derivative having the formula

22



- wherein R is cyano or a group which may be converted to a cyano group, Hal is halogen, the dotted line is a double or a single bond and Z is a group $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R}'\text{R}'')$ wherein R' and R'' C₁₋₆-alkyl, or R' and R'' are connected to each other to form a cyclic structure including the N-atom to which they are attached, or Z is a group which may be converted to a dimethylaminomethyl group, W is O or S and R³ is -Y-R¹ wherein Y is a bond, O, S or NH and R¹ is C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl or C₂₋₁₀-alkynyl all of which may optionally be substituted with one or more substituents selected from C₁₋₁₀-alkoxy, C₁₋₁₀-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₁₀-alkylamino, di-(C₁₋₁₀-alkyl)amino, aryl, aryloxy, arylthio and heteroaryl, or R¹ is aryl, wherein any of the the aryl and heteroaryl groups may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl, C₂₋₁₀-alkynyl, C₁₋₁₀-alkoxy, C₁₋₁₀-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₁₀-alkylamino and di-(C₁₋₁₀-alkyl)amino, or a salt thereof and/or a diol of formula



wherein R, Hal, the dotted line and Z are as defined above, or a salt thereof, from a mixture containing a compound of formula (IV) and a diol of formula (II), which comprises:

- a) treating said mixture containing the acyl of formula (IV) and the diol of formula (II) in a mixture of water and an organic solvent in the presence of an acid;
- b) separating the aqueous phase containing the diol of formula (II) as a salt of said acid from the organic phase to obtain an organic phase containing the acyl derivative of formula (IV) as a salt of said acid;

10

optionally isolating the compound of formula (II) as the base or as a salt thereof and optionally the compound of formula (IV) as the base or as a salt thereof.

- According to one embodiment of the invention R is halogen or cyano, preferably cyano in the method for isolation and purification above.

15

According to another embodiment of the invention Hal is fluoro in the method for isolation and purification above.

- According to a preferred embodiment, the dotted line represents a single bond.

20

In another embodiment of the invention, Z is dimethylaminomethyl or a group that may be converted to a dimethylaminomethyl group. Suitable Z is dimethylaminomethyl.

25

According to a preferred embodiment of the invention Hal is fluoro, Z is dimethylaminomethyl, the dotted line is a single bond and R is cyano or halogen, preferably cyano.

- In a further embodiment of the invention the compound of formula (IV) in the method for isolation and purification above, is a compound wherein Y is O, or S, preferably Y is O and the other substituents are as defined above. In a further embodiment of the invention the compound of formula (IV) in the method for isolation and purification above, is a compound wherein Y is S.

30

28

In a further embodiment of the invention the compound of formula (IV) in the method for isolation and purification above, is a compound wherein Y is a bond and the other substituents are as defined above.

5

In a further embodiment of the invention the compound of formula (IV) in the method for isolation and purification above, is a compound wherein Y is NH and the other substituents are as defined above.

- 10 In a preferred embodiment of the invention, the compound of formula (IV) in the method for isolation and purification above, is a compound wherein R¹ is C₁₋₆-alkyl, C₂₋₆-alkenyl or C₂₋₆-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₆-alkoxy, C₁₋₆-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₆-alkylamino and di-(C₁₋₆-alkyl)amino, more preferred R¹ is
- 15 C₁₋₄-alkyl, C₂₋₄-alkenyl or C₂₋₄-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₄-alkoxy, C₁₋₄-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₄-alkylamino and di-(C₁₋₄-alkyl)amino, preferably R¹ is C₁₋₃-alkyl, C₂₋₃-alkenyl and C₂₋₃-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₃-alkoxy, C₁₋₃-alkylthio,
- 20 hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₃-alkylamino and di-(C₁₋₃-alkyl)amino and most preferred R¹ is C₁₋₃-alkyl, in particular unbranched C₁₋₃-alkyl.

- In another preferred embodiment of the invention, the compound of formula (IV) in the method for isolation and purification above, is a compound wherein R¹ is as
- 25 follows: C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl or C₂₋₁₀-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₁₀-alkoxy, C₁₋₁₀-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₆-alkylamino and di-(C₁₋₁₀-alkyl)amino, more suitable R¹ is C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl or C₂₋₁₀-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from
- 30 hydroxy, halogen, amino, nitro and cyano, preferably R¹ is C₁₋₁₀-alkyl, preferably unbranched C₁₋₁₀-alkyl and more preferred R¹ is unbranched C₄₋₁₀-alkyl.

By the above method for isolation and purification, a salt of the R- or S-enantiomer of a compound having the formula (II) with an acid may be selectively extracted into an

aqueous layer and a salt of the opposite enantiomer of a compound of formula (IV) with an acid may be selectively separated into an organic layer by treating, in the presence of the acid, a mixture comprising an enantiomer of formula (II) and the opposite enantiomer of formula (IV), reaction solvent and the like with an organic solvent and water, and in presence of an acid. In this case, the salt of the enantiomer of formula (IV) and the salt of the enantiomer of formula (II) may be separated with little loss of the desired enantiomers.

According to one embodiment of the above method for isolation and purification, the S-enantiomer of the compound of formula (IV) is isolated from the R-enantiomer of the compound of formula (II).

According to another embodiment of the above method for isolation and purification, the S-enantiomer of the diol of formula (II) is isolated from the R-enantiomer of the acyl derivative of formula (IV).

The amount of water to be used is 1:2 to 1:100, preferably 1:5 to 1:50, as a ratio between the compound of formula (II) and water. In addition, prior to the extraction with water, the reaction solvent may be evaporated to reduce the amount thereof or may be substituted with another organic solvent.

The acid which may be used in the above isolation and purification process is not particularly restricted, but for example, there may be mentioned, mineral acids such as hydrochloric acid, sulfuric acid and phosphoric acid; organic acids, in particular carboxylic acids, represented by aliphatic carboxylic acids such as formic acid, acetic acid, propionic acid, n-butyric acid, iso-butyric acid, n-valeric acid, iso-valeric acid, pivalic acid, n-caproic acid, iso-caproic acid, cyclopentanecarboxylic acid, cyclohexanecarboxylic acid, oxalic acid, malonic acid and tartaric acid; or aromatic carboxylic acids such as benzoic acid, p-chlorobenzoic acid, p-nitrobenzoic acid, p-methoxybenzoic acid, p-toluic acid, o-toluic acid, m-toluic acid, naphthoic acid, phthalic acid and telephthalic acid. Among them, organic acids are preferred, in particular carboxylic acids such as n-butyrate, iso-valerate, cyclohexanecarboxylic acid, pivalic acid, benzoic acid and o-toluic acid, and particularly preferred is pivalic acid. Needless to say, the above acids may be used singly or in a combination of two

or more species. The amount of the acids to be used is not particularly restricted, but the molar ratio of the sum of the compounds of formula (IV) and (II) and acid, is usually 1:1 to 1:5, and preferably 1:1 to 1:3.

- 5 The acid used in the present isolation and purification step may be the same as the organic acid used in the acylation or deacylation reaction according to the invention or may be a different one.

- 10 As an organic solvent which may be used in the isolation and purification step, there may be mentioned, for example, hydrocarbons such as hexane, heptane, benzene and toluene; ethers such as diethyl ether, tetrahydrofuran, 1,4-dioxane, tert-butyl methyl ether and dimethoxyethane; ketones such as acetone, diethyl ketone and methyl ethyl ketone; esters such as methyl acetate, ethyl acetate, ethyl butyrate and ethyl benzoate; halogenated hydrocarbons such as methylene chloride, chloroform and 1,1,1-
15 trichloroethane. Among them, aliphatic hydrocarbons, such as hexane and heptane and aromatic hydrocarbons, such as benzene and toluene are preferred. Most preferred are aromatic hydrocarbons and most preferred is toluene. The above solvents may be used singly or in a combination of two or more solvents.

- 20 Temperature of the isolation and purification step is preferably at 0 to 80 °C, and more preferably at 10 to 40 °C and most preferred at 20 to 30 °C

- Following separation of the salts of the compounds of formula (II) and (IV) according to the above method for isolation and purification, minor amounts of the
25 compound of formula (IV) which is partly mixed in an aqueous layer of the salt of the compound of formula (II) with an acid, and the like can be efficiently removed by washing the aqueous layer with an organic solvent.

- The salt of the diol of formula (II) may be used as an aqueous solution of the salt, and
30 if needed, it may be used as a solution in another solvent or a concentrate obtained by concentration, solvent substitution or the like operation. Furthermore, it can be used as a crystal obtained by crystallization or the like operation. However, it is usual that the diol of formula (II) is be used as a free diol form obtained by the following operations: A mixture containing the diol of formula (II) and an organic solvent

and/or its concentrate is obtained by treating an aqueous layer with a general base such as sodium hydroxide or potassium hydroxide to control the pH of the aqueous layer to be at least 9, preferably at least 11, then extracting the free amine form of the diol of formula (II) with an organic solvent, followed by washing and concentrating the extract. The chemical purity of the diol of formula (II) obtained by the series of isolation and purification method is usually at least 95%, preferably at least 97%, more preferably at least 99% and most preferably at least 99.5%.

On the other hand, the compound of formula (IV) obtained by the above operations may be washed with an aqueous phase in order to improve chemical purity of the product. The compound of formula (IV) may be obtained as a free amine form by treating the ammonium salt of the compound of formula (IV), obtained by the above operations, with a base. The chemical purity of the diol of formula (IV) obtained by the series of isolation and purification method is usually at least 95%, preferably at least 97%, more preferably at least 99% and most preferably at least 99.5%.

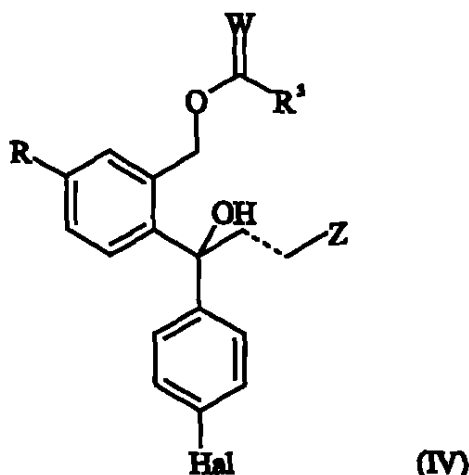
The optical purity of the product obtained after separation of the enantiomers of formula (II) and (IV) as above, may be improved before further processing. Improvement of the optical purity may be obtained by chromatography as described in WO 03/011278 or by crystallisation of diastereomeric esters or salts with optically active acids as described in US patent No. 4,943,590.

According to a further embodiment of the invention, the mixture of compound of formula (II) and compound of formula (IV) which is separated by the above method for isolation and purification has been prepared by the selective acylation and in another embodiment by selective deacylation according to the invention.

The invention also relates to another novel method for the separation of the R- or S-diol of formula (II) from the acyl derivative of formula (IV) of the other enantiomer whereby the desired compound may be isolated and purified.

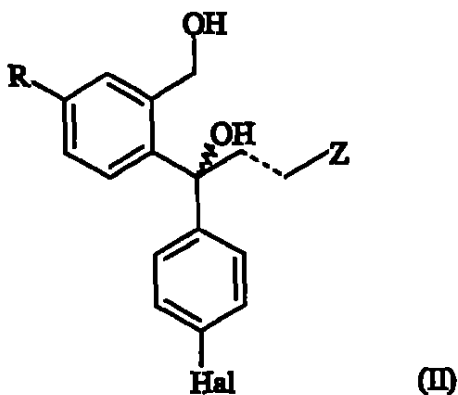
According to this other method for isolation and purification the acyl derivative having the formula

28



- wherein R is cyano or a group which may be converted to a cyano group, Hal is halogen, the dotted line represents a double or a single bond, Z is a group
- 5 $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R}'\text{R}'')$ wherein R' and R'' are C_{1-6} -alkyl, or R' and R'' are connected to each other to form a cyclic structure including the N-atom to which they are attached, or Z is a group which may be converted to a dimethylaminomethyl group, W is O or S; and R³ is $-\text{Y}-\text{R}^1$ wherein Y is a bond, O, S or NH and R¹ is C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl or C_{2-10} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with
- 10 substituents selected from C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino, di- $(\text{C}_{1-10}$ -alkyl)amino, aryl, aryloxy, arylthio and heteroaryl, or R¹ is aryl, wherein any of the the aryl and heteroaryl groups may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl, C_{2-10} -alkynyl, C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen,
- 15 amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino and di- $(\text{C}_{1-10}$ -alkyl)amino, or a salt thereof

and/or the diol of formula



wherein R, Hal, the dotted line and Z are as defined above, or a salt thereof, is isolated from a mixture containing a compound of formula (IV) and a compound of formula (II), by a method comprising:

5

a) treating said mixture containing the compound of formula (IV) and the diol of formula (II) in a mixture of water, a protic organic solvent and an apolar organic solvent;

b) separating the aqueous phase containing the diol of formula (II), from the organic phase to obtain an organic phase containing the compound of formula (IV);

10

optionally isolating the diol of formula (II) and/or (IV) as a base and optionally conversion of the compound of formula (II) and /or (IV) to a salt thereof.

15 Any of the above isolated phases (aqueous and organic) may additionally be washed one or more times with an organic or an aqueous solvent, respectively to improve the chemical purity of the product.

20 According to one embodiment of the above method for isolation and purification, the S-diol of the compound of formula (II) is separated from the R-enantiomer of the compound of formula (IV).

25 According to another embodiment of the above method for isolation and purification, the S-enantiomer of the compound of formula (IV) is separated from the R-enantiomer of the compound of formula (II).

According to one embodiment of the invention R is halogen or cyano, preferably cyano in the method for isolation and purification above.

30 According to another embodiment of the invention Hal is fluoro in the method for isolation and purification above.

According to a preferred embodiment, the dotted line represents a single bond.



In another embodiment of the invention, Z is dimethylaminomethyl or a group that may be converted to a dimethylaminomethyl group. Suitable Z is dimethylaminomethyl.

- 5 According to a preferred embodiment of the invention Hal is fluoro, Z is dimethylaminomethyl, the dotted line is a single bond and R is cyano or halogen, preferably cyano.

- 10 In a further embodiment of the invention the compound of formula (IV) in the method for isolation and purification above, is a compound wherein Y is O, or S, preferably Y is O and the other substituents are as defined above. In a further embodiment of the invention the compound of formula (IV) in the method for isolation and purification above, is a compound, wherein Y is S.

- 15 In a further embodiment of the invention the compound of formula (IV) in the method for isolation and purification above, is a compound wherein Y is a bond and the other substituents are as defined above.

- 20 In a further embodiment of the invention the compound of formula (IV) in the method for isolation and purification above, is a compound wherein Y is NH and the other substituents are as defined above.

- In a preferred embodiment of the invention, the compound of formula (IV) in the method for isolation and purification above, is a compound wherein R¹ is C₁₋₆-alkyl, C₂₋₆-alkenyl or C₂₋₆-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₆-alkoxy, C₁₋₆-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₆-alkylamino and di-(C₁₋₆-alkyl)amino, more preferred R¹ is C₁₋₄-alkyl, C₂₋₄-alkenyl or C₂₋₄-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₄-alkoxy, C₁₋₄-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₄-alkylamino and di-(C₁₋₄-alkyl)amino, preferably R¹ is C₁₋₃-alkyl, C₂₋₃-alkenyl or C₂₋₃-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₃-alkoxy, C₁₋₃-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₃-alkylamino and di-(C₁₋₃-alkyl)amino and most preferred R¹ is C₁₋₃-alkyl, in particular unbranched C₁₋₃-alkyl.

In another preferred embodiment of the invention, the compound of formula (IV) in the method for isolation and purification above, is a compound wherein R¹ is as follows: C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl or C₂₋₁₀-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₁₀-alkoxy, C₁₋₁₀-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₆-alkylamino and di-(C₁₋₁₀-alkyl)amino, more suitable R¹ is C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl or C₂₋₁₀-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from hydroxy, halogen, amino, nitro and cyano, preferably R¹ is C₁₋₁₀-alkyl, preferably unbranched C₁₋₁₀-alkyl and more preferred R¹ is unbranched C₄₋₁₀-alkyl

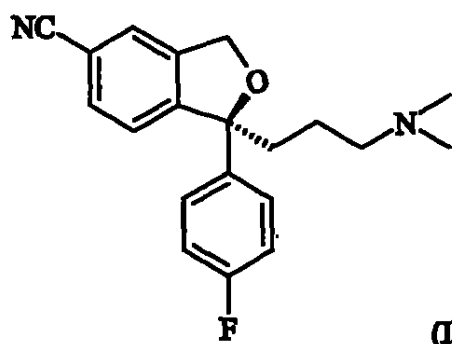
As an protic organic solvent which may be used in the isolation and purification step, there may be mentioned, for example, alcohols such as methanol, ethanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-butanol, 2-butanol and tert-butanol. The above solvents may be used singly or in a combination of two or more species.

As an apolar organic solvent which may be used in the isolation and purification step, there may be mentioned, for example, hydrocarbons such as hexane, heptane, benzene and toluene; ethers such as diethyl ether, tert-butyl methyl ether and dimethoxyethane; halogenated hydrocarbons such as methylene chloride, chloroform and 1,1,1-trichloroethane. Among them, preferred are hydrocarbons such as hexane, heptane, benzene and toluene, and more preferred is heptane. The above solvents may be used singly or in a combination of two or more species.

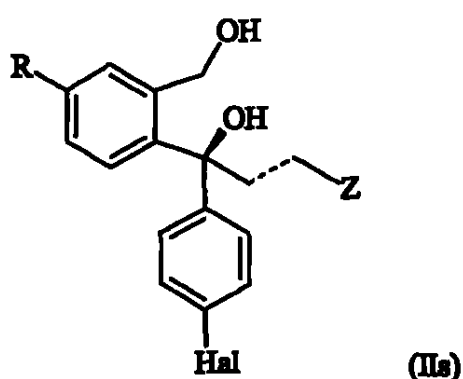
According to a specific embodiment of the invention, the mixture of the compound of formula (IV) and the diol of formula (II) used in the above method for isolation and purification has been prepared by enzymatic acylation according to the invention and in another embodiment by enzymatic deacylation according to the invention.

The optical purity of the product obtained after separation of the enantiomers of formula (II) and (IV) as above, may have to be improved before further processing. Improvement of the optical purity may be obtained by chromatography as described in WO 03/006449 or by crystallisation of diastereomeric esters or salts with optically active acids as described in US patent No. 4,943,590.

The present invention also relates to a process for the preparation of escitalopram having the formula



or a pharmaceutically acceptable salt thereof comprising preparation of the S-enantiomer of a diol having the formula

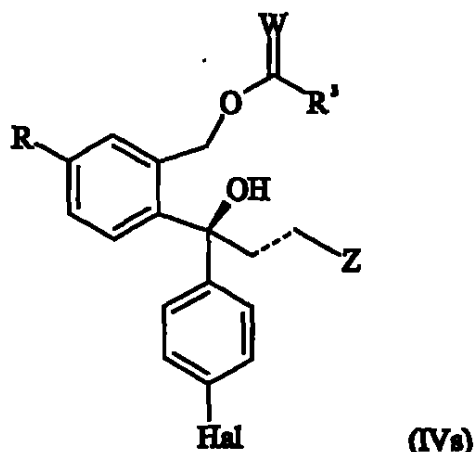


wherein R is cyano or a group which may be converted to a cyano group, the dotted line represents a double or a single bond, Z is a dimethylaminomethyl group or a group which may be converted to a dimethylaminomethyl group and Hal is halogen, or a salt thereof,

or the S-enantiomer of an acylated diol having the formula

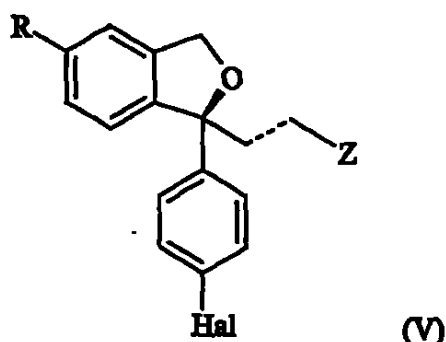
37

33



- wherein R, Z, the dotted line and Hal are as defined above, W is O or S, and R^3 is $-Y-R^1$, wherein R^1 is C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl or C_{2-10} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino, di- $(C_{1-10}$ -alkyl)amino, aryl, aryloxy, arylthio and heteroaryl, or R^1 is aryl, wherein any of the aryl and heteroaryl groups may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl, C_{2-10} -alkynyl, C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino and di- $(C_{1-10}$ -alkyl)amino and Y is a bond, O, S or NH or a salt thereof, in one embodiment by the method for selective enzymatic acylation according to the invention as defined in any of the embodiments above and in another embodiment by the method for selective enzymatic deacylation according to the invention as defined in any of the embodiments above, optionally followed by, in either order, conversion of the group R to a cyano group, reduction of a double bond represented by the dotted line, conversion of the group Z to a dimethylaminomethyl group and /or conversion of the group Hal to a fluoro group and ring closure under basic conditions of the S-enantiomer of formula (IIa) or (IVa) or a labile ester derivative thereof to form a compound of formula

34



5 followed by, in either order, if R is not cyano conversion of the group R to a cyano group, if the dotted line represents a double bond reduction to a single bond, if Z is not dimethylaminomethyl conversion of the group Z to a dimethylaminomethyl group and if Hal is not fluoro, conversion of Hal to a fluoro group, followed by isolation of escitalopram or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

10 According to one embodiment of the invention, the S-enantiomer of formula (IIa) above or the S-enantiomer of formula (IVa) used for the preparation of escitalopram is separated from the R-enantiomer of formula (IV) and (II) respectively, before ringclosure.

15 According to one embodiment of the above method for the preparation of escitalopram the mixture of the R- or S-enantiomer of a compound of formula (II) and the opposite enantiomer of the compound of formula (IV) obtained by enzymatic acylation has been separated from each other by the isolation and purification process according one of the above novel methods for isolation and purification. According to another embodiment, the mixture has been separated by the other of the above
20 novel methods for isolation and purification.

25 According to still another embodiment of the above method for the preparation of escitalopram the mixture of the R- or S-enantiomer of a compound of formula (II) and the opposite enantiomer of the compound of formula (IV) obtained by enzymatic deacylation has been separated from each other by the isolation and purification process according one of the above novel methods for isolation and purification. According to another embodiment, the mixture has been separated by the other of the above novel methods for isolation and purification.

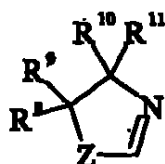
39

According to another embodiment of the invention, the S-enantiomer of formula (IIa) above or the S-enantiomer of formula (IVa) used for the preparation of escitalopram is *not* separated from the R-enantiomer of formula (IV) and (II) respectively, before
 5 ringclosure.

As mentioned above, the group R means cyano or any other group which may be converted to a cyano group.

10 Groups which may be converted to a cyano group include halogen such as chloro, bromo, iodo or fluoro, preferably chloro or bromo.

Other groups which may be converted to cyano include $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_n\text{SO}_2\text{O}-$, wherein n is 0-8, -OH, -CHO, -CH₂OH, -CH₂NH₂, -CH₂NO₂, -CH₂Cl, -CH₂Br, -CH₃, -NHR⁵, -
 15 CHNOH, -COOR⁶, -CONR⁶R⁷ wherein R⁵ is hydrogen or C₁₋₆ alkylcarbonyl, and R⁶ and R⁷ are selected from hydrogen, optionally substituted C₁₋₆ alkyl, aryl-C₁₋₆ alkyl or aryl and, a group of formula



(VII)

20 wherein Z is O or S; R⁸ - R⁹ are each independently selected from hydrogen and C₁₋₆ alkyl or R⁸ and R⁹ together form a C₂₋₃ alkylene chain thereby forming a spiro ring; R¹⁰ is selected from hydrogen and C₁₋₆ alkyl, R¹¹ is selected from hydrogen, C₁₋₆ alkyl, a carboxy group or a precursor group therefore, or R¹⁰ and R¹¹ together form a C₂₋₃ alkylene chain thereby forming a spiro ring.

25

When R is halogen, in particular bromo or chloro, conversion to a cyano may be carried out as described in US 4,136,193, WO 00/13648, WO 00/11926 and WO 01/02383.

30 According to US 4,136,193 conversion of a bromo group to a cyano group, is carried out by reaction with CuCN.

WO 00/13648 and WO 00/11926 describe the conversion of a halogen or a triflate group to a cyano group by cyanation with a cyanide source in presence of a Pd or Ni catalyst.

5

Other processes for the conversion of a bromo compound to the corresponding cyano derivative involve reaction of the bromo compound with magnesium to form a Grignard reagent, followed by reaction with a formamide to form an aldehyde. The aldehyde is converted to an oxime or a hydrazone which is converted to a cyano group by dehydration and oxidation, respectively.

10

Alternatively, the bromo compound is reacted with magnesium to form a Grignard reagent, followed by reaction with a compound containing a CN group bound to a leaving group.

15

A detailed description of the above two procedures may be found in WO 01/02383.

Compounds wherein the group R is -CHO, may be converted to the corresponding compounds wherein R is cyano by methods analogous to those described in WO 99/00210.

20

Compounds wherein the group R is NHR^{12} , wherein R^{12} is hydrogen or alkylcarbonyl, may be converted to the corresponding compounds wherein the group R is cyano by methods analogous to those described in WO 98/19512.

Compounds wherein R is a $-\text{COOR}^6$ group, may be converted to the corresponding compound wherein R is cyano by conversion to the amide via the corresponding acid chloride or an ester thereof followed by dehydration of the amide. WO 01/68632.

25

Alternatively, a compound where R is $-\text{COOH}$ may be reacted with chlorosulfonyl isocyanate in order to form the nitrile, or treated with a dehydrating agent and a sulfonamide as described in WO 00/44738.

30

Compounds wherein the group R is $-\text{CONR}^{13}\text{R}^{14}$, wherein R^{13} and R^{14} are selected from hydrogen optionally substituted alkyl, aralkyl or aryl may be converted to the

corresponding cyano compound by methods analogous to those described in WO 98/00081 and WO 98/19511.

Compounds wherein the group R is a group of formula (VII) may be converted to the
5 corresponding cyano compound by methods analogous to those described in WO 00/23431.

Compounds wherein R is OH, -CH₂OH, -CH₂NH₂, -CH₂NO₂, -CH₂Cl, -CH₂Br, -CH₃,
or any of the groups above, may be converted to the corresponding cyano compounds
10 by methods analogous to those described in WO 01/68632.

Racemic compounds of formula (II) may be prepared by the methods described in the
above mentioned patents or by the alkylation method described in US patent No.
4.136.193 or the double grignard reaction described in EP 171 943 or by analogous
15 methods. Racemic compounds of formula (IV) may be prepared from racemic
compounds of formula (II) by non-selective acylation using anhydrides, esters,
carbonates, isocyanates or isothiocyanates as defined by formulas (IIIa), (IIIb), (IIIc),
R¹-N=C=O and R¹-N=C=S above.

20 In some cases the racemic compound of formula (II) may be available in the form of
an acid addition salt, such as the sulphate salt, and in this case a free base of the
compound of formula (II) may be obtained by treating the salt with a base in a
mixture of water and an organic solvent, to transfer the compound of formula (II) into
the organic phase.

25 Preferably, R is cyano in the compounds of formula (II), (IIa), (IIr), (IV) (IVa) (IVr)
and (V). If R is not cyano, conversion of the group R to a cyano group is suitably
carried out after ringclosure to form a compound of formula (V).

30 Preferably, Hal is fluoro in the compounds of formula (II), (IIa), (IIr), (IV) (IVa) (IVr)
and (V). If Hal is not fluoro, conversion of the group Hal to a fluoro is suitably carried
out after ringclosure to form a compound of formula (V). A procedure for carrying out
this conversion is described in Speciality Chemicals Magazine, April 2003, page 36-
38.

Z groups which may be converted to dimethylaminomethyl are groups such as $-\text{CH}_2\text{-L}$, $-\text{CH}_2\text{-NO}_2$, $-\text{MgHal}$, cyano, aldehyde, $-\text{CH}_2\text{-O-Pg}$, $-\text{CH}_2\text{-NPg}_1\text{Pg}_2$, $-\text{CH}_2\text{-NMePg}_1$, $-\text{CH}_2\text{-NHCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-NH}_2$, $-\text{CO-N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{CH}(\text{A}^1\text{R}^{12})(\text{A}^1\text{R}^{13})$,
 5 $-(\text{A}^1\text{R}^{14})(\text{A}^2\text{R}^{15})(\text{A}^3\text{R}^{16})$, $-\text{COOR}^{17}$, $-\text{CH}_2\text{-CO-NH}_2$, $-\text{CH=CH-R}^{18}$ or $-\text{CONHR}^{19}$,
 wherein Pg is a protection group for an alcohol group, Pg₁ and Pg₂ are protection groups for an amino group, R¹² and R¹³ are independently selected from C₁₋₆ alkyl, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl and optionally alkyl substituted aryl or aralkyl groups or R¹² and R¹³ together form a chain of 2 to 4 carbon atoms, each of R¹⁴ - R¹⁸ are
 10 independently selected from C₁₋₆ alkyl, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl and optionally C₁₋₆ alkyl substituted aryl or aryl-C₁₋₆ alkyl, R¹⁹ is hydrogen or methyl and A¹, A² and A³ are selected from O and S; L is a leaving group, such as halogen or $-\text{O-SO}_2\text{-A}$ wherein A is C₁₋₆ alkyl, C₂₋₆ alkenyl, C₂₋₆ alkynyl or optionally C₁₋₆ alkyl substituted aryl or aryl-C₁₋₆ alkyl.

15

In one embodiment of the invention Z is dimethylaminomethyl, $-\text{CH}_2\text{-L}$, $-\text{CH}_2\text{-NPg}_1\text{Pg}_2$, $-\text{CH}_2\text{-NMePg}_1$, $-\text{CH}_2\text{-NHCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-NH}_2$, $-\text{CO-N}(\text{CH}_3)_2$, aldehyde or $-\text{COOR}^{17}$ in the compounds of formula (II), (IIa), (IIr), (IV) (IVa) (IVr) and (V).

20 Compounds wherein Z is $-\text{CH}_2\text{-O-Pg}$ may be converted to the corresponding compounds wherein Z is dimethylaminomethyl by removal of the protection group to form the corresponding alcohol and thereafter conversion of the alcohol group to a feasible leaving group and reaction of the resulting compound with

- a) dimethylamine or a salt thereof,
- 25 b) methylamine followed by methylation or reductive amination, or
- c) with an azide followed by reduction to form the corresponding amine and thereafter methylation or reductive amination, as described in WO 01/43525, WO 01/51478 or WO 01/68631 or by analogous methods.

30 Compounds wherein Z is $-\text{CH}_2\text{-L}$, wherein L is a leaving group, may be converted to a dimethylaminomethyl group in the same manner.

Compounds wherein Z is $-\text{CO-N}(\text{CH}_3)_2$ and $-\text{CO-NHR}^{19}$, wherein R¹⁹ is hydrogen or methyl, may be converted to the corresponding compounds wherein Z is

dimethylaminomethyl by reduction of the amide and if a primary or secondary amine is formed, followed by methylation or reductive amination to form a dimethylaminomethyl group as described in WO 01/43525 or WO 01/68631 or by analogous methods.

5

Compounds wherein Z is $-\text{CH}_2\text{-NMe(Pg}_1\text{)}$ or $-\text{CH}_2\text{-N(Pg}_1\text{)(Pg}_2\text{)}$ may be converted to the corresponding compound wherein Z is dimethylaminomethyl by removal of the protection groups, i.e. to obtain compounds wherein Z is $-\text{CH}_2\text{-NH}_2$ or $-\text{CH}_2\text{-NMe}$ and thereafter methylation of the amino group or reductive amination to form a

10

dimethylaminomethyl group as described in WO 01/43525 or WO 01/68631 or by analogous methods.

Compounds wherein Z is $-\text{CH(A}^1\text{R}^{12}\text{)(A}^2\text{R}^{13}\text{)}$ may be converted to the corresponding compounds wherein Z is dimethylaminomethyl by deprotection to form an aldehyde (compounds where Z is $-\text{CH}_2\text{-CA}^1\text{H}$) followed reductive amination with

15

dimethylamine to form a dimethylaminomethyl group as described in WO 01/43525 or WO 01/68631 or by analogous methods.

Compounds wherein Z is $-\text{C(A}^1\text{R}^{14}\text{)(A}^2\text{R}^{15}\text{)(A}^3\text{R}^{16}\text{)}$ may be converted to the corresponding compounds wherein Z is dimethylaminomethyl

i) by hydrolysis to form a carboxylic acid or an ester thereof and thereafter reduction to form an alcohol and thereafter conversion of the alcohol group to a feasible leaving group, followed by replacement of the leaving group with a dimethylamino group as described above, or

20

ii) conversion of the carboxylic acid or an ester thereof to an amide by reaction with an amine of NH(Me)_2 , NH_2Me , NH_3 or a salt thereof followed by, in either

25

order, reduction of the amide and if necessary methylation or reductive amination to form a dimethylamino group as described in WO 01/68631 or by analogous methods,

Compounds wherein Z is $-\text{COOR}^{17}$ may be converted to the corresponding compounds wherein Z is dimethylaminomethyl as described above, starting with the carboxylic acid ester.

30

Compounds wherein Z is $-\text{CH}_2\text{-CONH}_2$ may be converted to the corresponding compound wherein Z is dimethylaminomethyl by treatment with hypohalide to form a

primary amine followed by methylation of the free amino group or reductive amination to form a dimethylaminomethyl group as described in WO 01/43525 or WO 01/68631 or by analogous methods.

- 5 Compounds wherein Z is $-\text{CH}=\text{CHR}^{18}$ may be converted to the corresponding compound wherein Z is dimethylaminomethyl by oxidation to form an aldehyde which may be converted to dimethylaminomethyl by reductive amination as described in WO 01/43525 or WO 01/68631 or by analogous methods.
- 10 Compounds wherein Z is cyano or $-\text{CH}_2\text{NO}_2$ may be converted to the corresponding compound wherein Z is dimethylaminomethyl by reduction followed by methylation or reductive amination of the free of the amino group formed to form dimethylaminomethyl as described in WO 01/68629 or by analogous methods.

- Compounds wherein Z is $-\text{MgHal}$ may be converted to the corresponding compound wherein Z is dimethylaminomethyl by reaction with dimethylaminomethyl alkyl ether of formula $(\text{CH}_3)_2\text{NCH}_2\text{O-alkyl}$ as described in WO 01/68629 or by analogous methods.
- 15

- Preferably, Z is dimethylaminomethyl. If Z is not dimethylaminomethyl, conversion of Z to a dimethylaminomethyl group is suitably carried out after ringclosure.
- 20

Suitably, Z is dimethylaminomethyl, $-\text{CH}_2\text{-I}$, $-\text{CH}_2\text{-NPg}_1\text{Pg}_2$, $-\text{CH}_2\text{-NMePg}_1$, $-\text{CH}_2\text{-NHCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-NH}_2$, aldehyde, $-\text{CO-N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{COOR}^{17}$ when the dotted line represents a bond.

25

Compounds of formula (II) or (IV) wherein Z is dimethylaminomethyl, $\text{CH}_2\text{-NPg}_1\text{Pg}_2$, $-\text{CH}_2\text{-NMePg}_1$, $-\text{CH}_2\text{-NHCH}_3$, or $-\text{CH}_2\text{-NH}_2$, in particular compounds wherein Z is dimethylaminomethyl, $-\text{CH}_2\text{-NHCH}_3$, or $-\text{CH}_2\text{-NH}_2$, are particularly well suited for the method of purification isolation according to the invention, wherein the compounds of formula (II) and (IV) are separated.

30

In the compounds of formula (II), (IIa), (IIr), (IV) (IVs) (IVr) and (V), the dotted line is preferably a single bond. Compounds wherein the dotted line represents a double

bond may be converted to the corresponding compound wherein the dotted line is a single bond by the methods described in WO 01/68630. Preferably the reduction is carried out after ringclosure.

- 5 Enantioselective ring-closure of the compounds of formula (IVa) or (IIa) to form the compounds of formula (V) may suitably be carried out by treatment of a labile ester derivative of the compound with a base such as $\text{KOC}(\text{CH}_3)_3$ and other alkoxides, NaH and other hydrides, triethylamine, ethyldiisopropylamine or pyridine, at low temperatures in an inert organic solvent, such as tetrahydrofuran, toluene, DMSO, 10 DMF, *t*-butyl methyl ether, dimethoxyethane, dimethoxymethane, dioxane, acetonitrile or dichloromethane. This process is described in US patent No. 4,943,590.

- 15 Ringclosure of the compound of formula (IIa), is suitably carried out by treatment with a base as described above in presence of an agent capable of forming a labile group with the primary alcohol of the diol, such as methanesulfonyloxy, *p*-toluenesulfonyloxy, 10-camphorsulfonyloxy, trifluoroacetyloxy and trifluoromethanesulfonyloxy and halogen.

- 20 In some cases, it may be advantageous to exchange the $-\text{W}-\text{R}^3$ group in the compound of formula (IVa), for a more labile group before ringclosure is carried out. Such labile groups (leaving groups) could typically be a group selected from methanesulfonyloxy, *p*-toluenesulfonyloxy, 10-camphorsulfonyloxy, trifluoroacetyloxy and trifluoromethanesulfonyloxy or halogen.

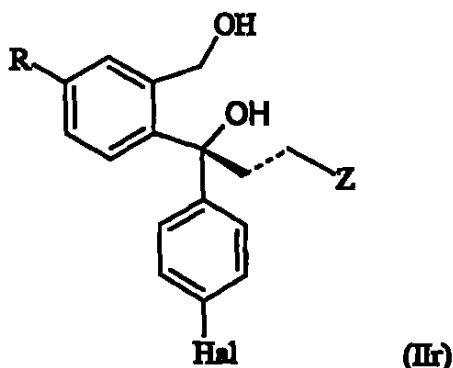
25

Typically, the compound of formula (IVa) is subjected to hydrolysis to form the compound of formula (IIa) with aqueous base, such as NaOH, KOH or LiOH in water or alcohol or a mixture thereof and then reacted with an activated leaving group, such as for example mesylchloride or tosylchloride in an organic solvent in the 30 presence of an organic base.

The optical purity of the escitalopram product may have to be improved after ringclosure. Improvement of the optical purity may be obtained by chromatography

on a chiral stationary phase or by crystallisation of racemic citalopram base or a salt thereof according to the methods described in WO 03/000672.

- The R-enantiomer of the compounds of formula (II) and (IV) obtained according to the invention may be used to prepare racemic citalopram and escitalopram by ring closure in acidic environment according to the method described in WO 03/000672. Suitable acids for carrying out acidic ring closure are mineral acid, a carboxylic acid, a sulfonic acid or sulfonic acid derivative, more suitable H_2SO_4 or H_3PO_4 .
- Thus in another embodiment, the invention relates to a process for the preparation of racemic citalopram and /or escitalopram or a pharmaceutically acceptable salt thereof comprising preparation of the R-enantiomer of a diol having the formula

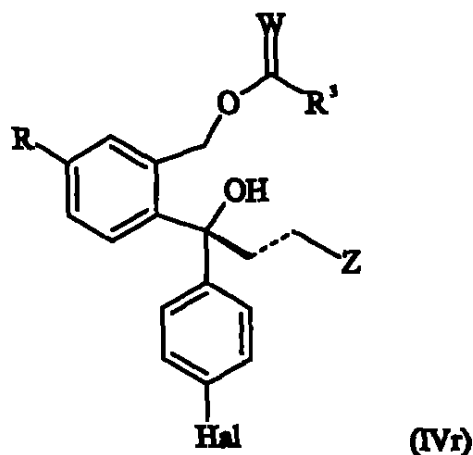


15

wherein R is cyano or a group which may be converted to a cyano group, the dotted line represents an optional bond and Z is a dimethylaminomethyl group or a group which may be converted to a dimethylaminomethyl group and Hal is halogen, or a salt thereof,

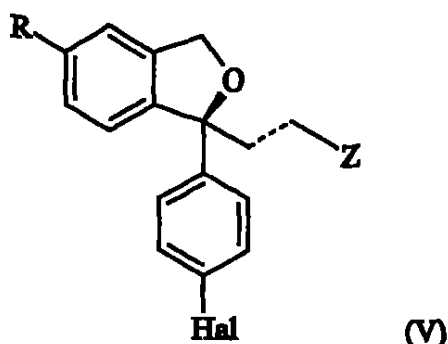
20

or the R-enantiomer of an acylated diol having the formula



- wherein R, Z, the dotted line and Hal is as defined above, W is O or S, and R³ is -Y-R¹, wherein R¹ is C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl or C₂₋₁₀-alkynyl all of which may
- 5 optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₁₀-alkoxy, C₁₋₁₀-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₁₀-alkylamino, di-(C₁₋₁₀-alkyl)amino, aryl, aryloxy, arylthio and heteroaryl, or R¹ is aryl, wherein any of the aryl and heteroaryl groups may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl, C₂₋₁₀-alkynyl, C₁₋₁₀-alkoxy,
- 10 C₁₋₁₀-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₁₀-alkylamino and di-(C₁₋₁₀-alkyl)amino and Y is a bond, O, S or NH, or a salt thereof, in one embodiment by the method for selective enzymatic acylation according to the invention as defined in any of the embodiments above and in another embodiment by the method for selective enzymatic deacylation according to the invention as defined in any of the
- 15 embodiments above, optionally followed by, in either order, conversion of the group R to a cyano group, reduction of a double bond represented by the dotted line to a single bond, conversion of the group Z to a dimethylaminomethyl group and /or conversion of the group Hal to a fluoro group and ringclosure under acidic conditions of the R-enantiomer of formula (IIr) or (IVs) to form a mixture of the compound of
- 20 formula

44



wherein Hal, Z, R and the dotted line are as defined above, and a minor amount of the corresponding R-enantiomer, followed by, in either order, if R is not cyano
 5 conversion of the group R to a cyano group, if the dotted line represents a double bond reduction to a single bond, if Z is not dimethylaminomethyl conversion of the group Z to a dimethylaminomethyl group and if Hal is not fluoro, conversion of Hal to a fluoro group, followed by isolation of escitalopram and/ or racemic citalopram or a pharmaceutically acceptable salt thereof, by precipitation of racemic citalopram free
 10 base or a salt thereof and recovery of escitalopram from the mother liquor of the precipitation.

Suitably, the above method for conversion of R-diol to escitalopram, is used for the preparation of escitalopram.

15 The conversion of of the group R to a cyano group, reduction of a double bond represented by the dotted line to a single bond, conversion of the group Z to a dimethylaminomethyl group and conversion of Hal to a fluoro group may be carried out as described above.

20 According to one embodiment of the above method for the preparation of escitalopram the mixture of the R- or S-enantiomer of a compound of formula (II) and the opposite enantiomer of the compound of formula (IV) obtained by enzymatic acylation has been separated from each other by the isolation and purification process
 25 according one of the above methods for isolation and purification. According to another embodiment, the mixture has been separated by the other of the above methods for isolation and purification.

According to still another embodiment of the above method for the preparation of escitalopram the mixture of the R- or S-enantiomer of a compound of formula (II) and the opposite enantiomer of the compound of formula (IV) obtained by enzymatic deacylation has been separated from each other by the isolation and purification process according one of the above methods for isolation and purification. According to another embodiment, the mixture has been separated by the other of the above methods for isolation and purification.

According to another embodiment of the invention, the S-enantiomer of formula (IIr) above or the S-enantiomer of formula (IVr) used for the preparation of escitalopram is *not* separated from the R-enantiomer of formula (IV) and (II) respectively, before ringclosure.

The optical purity of the escitalopram product may have to be improved after ringclosure. Improvement of the optical purity may be obtained by chromatography on a chiral stationary phase or by crystallisation of racemic citalopram base or a salt thereof according to the methods described in WO 03/000672.

As used herein, the term C₁₋₁₀-alkyl refers to a branched or unbranched alkyl group having from one to ten carbon atoms inclusive, such as methyl, ethyl, 1-propyl, 2-propyl, 1-butyl, 2-butyl, 2-methyl-2-propyl, 2-methyl-1-propyl, pentyl, hexyl and heptyl. C₁₋₆-alkyl refers to a branched or unbranched alkyl group having from one to six carbon atoms inclusive, such as methyl, ethyl, 1-propyl, 2-propyl, 1-butyl, 2-butyl, 2-methyl-2-propyl, 2-methyl-1-propyl, pentyl and hexyl. C₁₋₄-alkyl refers to a branched or unbranched alkyl group having from one to four carbon atoms inclusive, such as methyl, ethyl, 1-propyl, 2-propyl, 1-butyl, 2-butyl, 2-methyl-2-propyl and 2-methyl-1-propyl. C₁₋₃-alkyl refers to a branched or unbranched alkyl group having from one to three carbon atoms inclusive, such as methyl, ethyl, 1-propyl, 2-propyl.

Similarly, C₂₋₁₀-alkenyl and C₂₋₁₀-alkynyl designate branched or unbranched alkenyl and alkynyl groups, respectively, having from two to ten carbon atoms, including one double bond and one triple bond respectively, such as ethenyl, propenyl, butenyl, ethynyl, propynyl and butynyl. C₂₋₆-alkenyl and C₂₋₆-alkynyl designate branched or unbranched alkenyl and alkynyl groups, respectively, having from two to six carbon

atoms, including one double bond and one triple bond respectively, such as ethenyl, propenyl, butenyl, ethynyl, propynyl and butynyl. C₂₋₄-alkenyl and C₂₋₄-alkynyl designate branched or unbranched alkenyl and alkynyl groups, respectively, having from two to four carbon atoms, including one double bond and one triple bond respectively, such as ethenyl, propenyl, butenyl, ethynyl, propynyl and butynyl. C₂₋₃-alkenyl and C₂₋₃-alkynyl designate branched or unbranched alkenyl and alkynyl groups, respectively, having from two to three carbon atoms, including one double bond and one triple bond respectively, such as ethenyl, propenyl, ethynyl and propynyl.

10

The terms C₁₋₁₀ alkoxy, C₁₋₁₀ alkylthio, C₁₋₁₀ alkylamino and di-(C₁₋₁₀-alkyl)amino etc. designate such groups in which the alkyl group is C₁₋₁₀ alkyl as defined above. The terms C₁₋₆ alkoxy, C₁₋₆ alkylthio, C₁₋₆ alkylamino and di-(C₁₋₆-alkyl)amino etc. designate such groups in which the alkyl group is C₁₋₆ alkyl as defined above. The terms C₁₋₄ alkoxy, C₁₋₄ alkylthio, C₁₋₄ alkylamino and di-(C₁₋₄-alkyl)amino etc. designate such groups in which the alkyl group is C₁₋₄ alkyl as defined above. The terms C₁₋₃ alkoxy, C₁₋₃ alkylthio, C₁₋₃ alkylamino and di-(C₁₋₃-alkyl)amino etc. designate such groups in which the alkyl group is C₁₋₃ alkyl as defined above.

20 Halogen means fluoro, chloro, bromo or iodo.

The term aryl refers to a mono or bicyclic carbocyclic aromatic group, such as phenyl, or naphthyl, in particular phenyl.

25 Aryloxy, arylthio refers to such a group wherein aryl is as defined above.

The term heteroaryl refers to a 5 or 6 membered monocyclic heteroaromatic group or a bicyclic heteroaromatic group. Suitable the heteroaryl group contains 1-3 heteroatoms selected from O, S and N.

30

R⁰ and R¹ may together form a chain of 3 to 5 carbon atoms, thus forming an anhydride.

When Z is $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R}'\text{R}'')$ wherein R' and R'' connected to each other to form a cyclic structure including the N-atom to which they are attached, the cyclic structure form groups, such as groups include piperidin, pyrrolidin, morpholinyl and piperazinyl.

5

HOBt means hydroxybenzotriazol and pfp means pentafluorophenol.

Experimentals

- 10 In the following examples % conversion and optical purity were measured and calculated as described below:

HPLC analysis condition (for conversion rate) used for examples 1-28:

- 15 Column: YMC-Pack ODS-A 0.46 cm I.D. x 25 cm (made by YMC Co., LTD.)

Eluent: 25 mM Phosphate buffer / Acetonitrile = 60 / 40

Flow rate: 1.0ml/min

Temperature: 40°C

Detector wavelength: 237 nm

20

HPLC analysis condition (for conversion rate) used for examples 29-42:

Column: A Lichrospher RP-8 column, 250 x 4 mm (5 µm particle size)

Eluent: Buffered MeOH/water prepared as follows: 1,1 ml Et_3N added to 150 ml water, 10% $\text{H}_3\text{PO}_4(\text{aq})$ is added to pH=7 and water is added to a total of 200 ml. The

- 25 mixture is added to 1,8 L MeOH.

Temperature: 35°C

Flow rate: 1 mL/min

Pressure: 16,0 MPa

- 30 Detection: UV 254 nm

Injection volume: 10 microL

Conversion rate (%) = $P/(S+P) \times 100$, (P: amount of product, S: amount of residual substrate).

HPLC analysis condition (for optical purity) used for examples 1-28:

Column: Chiralpak AD 0.46 cm I.D. x 25 cm (made by DAICEL CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.)

5 Eluent: Heptane / methanol / ethanol / diethylamine = 85 / 7.5 / 7.5 / 0.1

Flow rate: 1.0ml/min

Temperature: 30°C

Detector wavelength: 240 nm

10 Conversion rate (%) = $P/(S+P) \times 100$, (P: amount of product, S: amount of residual substrate)

Super critical fluid chromatography. Analysis condition (for optical purity) used for examples 29-42:

15 Column: Daicel AD column with the dimensions 250 x 4,6 mm (5 µm particle size)

Mobile phase: Carbon dioxide

Modifier: Methanol with diethylamine (0.5%) and trifluoroacetic acid (0.5%).

Modifier gradient: 1-2% in 4 minutes

2-4% in 4 minutes

20 4-8% in 4 minutes

8-16% in 4 minutes

16-32% in 4 minutes

32-45% in 1,62 minutes

25 Temperature: Ambient temperature

Flow rate: 2 mL/min

Pressure: 20 mPa

Detection: UV 230 nm and 254 nm

Injection volume: 10 µL

30

Optical purity (% ee) = $(A-B) / (A+B) \times 100$, (A and B represent corresponding stereo isomer, A>B)

E-value = $\ln ((1-c/100) \times (1-Es/100)) / \ln ((1-c/100) \times (1+Es/100))$

(c: conversion ratio, Es: optical purity of residual substrate)

Example 1

5 (S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile

Water (200.7 g) and toluene (440.8 g) was added to ($\pm$)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, 1/2 sulfuric acid salt
10 (100.4 g, 0.257 mol), then stirred for 15 minutes and the temperature thereof was raised up to 60°C. Subsequently, 30% NaOH (34.5 g, 0.259 mol) was added dropwise over 5 minutes until pH of aqueous layer reached 11.4, and stirred for 30 minutes. After stirring, the mixture was allowed to stand for 5 minutes, and separated. The aqueous layer was discarded, and thus-obtained organic layer was washed with 220.0
15 g of water, and further, concentrated under reduced pressure at 60°C to remove away the remaining moisture. The concentration was adjusted by addition of toluene, to thereby obtain 583.1 g of a solution of 4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile in toluene (content of pure 4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile:
20 87.6 g, yield: 99.7%, 0.256 mol). Then, 52.5 g of toluene was poured onto 17.5 g of an immobilized enzyme (Novozym 435), then 583.1 g of the solution of 4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile in toluene was added, and the temperature of the mixture was controlled to 40°C. Subsequently, a mixed solution containing pivalic acid (28.7 g, 0.281 mol), vinyl
25 butyrate (29.2 gm 0,256 mol) and toluene (28.8 g) was added into the above mixture over 20 minutes, and the mixture was stirred at 40°C for 12 hours under a slight flow of nitrogen. After cooling the mixture over 2 hours so as to be 20°C, the mixture was stirred for 1 hour at the same temperature, and stirring was stopped. The enzyme was filtrated, and then the enzyme was washed twice with 105 g of toluene, and these
30 toluene layers were combined. The toluene layer contained 583.1 g of a solution of 4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile in toluene (content of pure (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile: 36.0 g, yield through the enzymatic resolution process: 41.1%, 0.105 mol).

A mixed solution containing the supernatant and washing fluid was extracted three times with water (438 g, 263 g x 2), and 1005.4 g of the obtained aqueous layer was washed with 79 g of toluene for five times. As a result, it was obtained 985.2 g of an aqueous solution of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, pivalic acid salt {content of pure (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile: 32.6 g, yield (through the process from the extraction with water to washing with toluene): 90.6 %, 0.0952 mol}. To this obtained 985.2 g of an aqueous solution of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, pivalic acid salt was added 218.2 g of toluene. Subsequently, 30% NaOH (13.3 g, 0.0998 mol) was slowly added to the mixture with stirring, until pH of aqueous layer reached 11.9, and the mixture was kept stirred for 30 minutes. After stirring, the mixture was allowed to stand 30 minutes and the toluene layer was separated, and the remaining aqueous layer was re-extracted with 142.5 g of toluene. The combined toluene layer was washed twice with 169.0 g of water, concentrated at 60°C under reduced pressure, to thereby obtain 64.0 g of a solution of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile in toluene. Said toluene solution contained 32.0 g (0.0935 mol) of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile. Overall yield was 36.4%. The optical purity determined by HPLC was 98.7 % ee, and chemical purity was 99.9 area %, {(R)-5-cyano-2-[dimethylamino-(4'-fluorophenyl)-hydroxybutyl] benzyl butyrate: 0.04 area %.

In the above system, the above "chemical purity" is represented by the following equation.

$$\text{(Chemical purity)} = [\text{Area value of 4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile}] / [(\text{Area value of all detected compounds}) - (\text{Area value of toluene}) - (\text{Area value derived from the system})] \times 100$$

(area %)

Example 2

55

A test tube equipped with a stopper was charged with 50 mg (0.146 m mol) of ($\pm$)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, 25 mg of various kinds of lipases, 33 mg (0.29 m mol) of vinyl butyrate and 1 ml of toluene, and stirred at 40°C for 16 hours. For the substrate with the optical purity of at least 50% ee, E-values were calculated. The results are shown in Table 1.

Enzyme	Origin	Conversion (%)	Optical purity (%a.e.)	Configuration	E-value
Liposyn TL DM (made by Novozymes A/S)	<i>Thermosynops longicauda</i>	97,8	82,7	(R)	1
Novozym 435 (made by Novozymes A/S)	<i>Candida antarctica</i>	99,7	96,4	(S)	18
None		1,16			

Table 1

10 Example 3

A test tube equipped with a stopper was charged with 10 to 100 mg (0.029 to 0.29 m mol) of ($\pm$)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, 10 to 100 mg of Novozym 435 (product of Novozymes, H/S ratio = 1.0), 33 to 333 mg (10 eq.) of vinyl butyrate and 1 ml of toluene, and stirred at 30°C for 16 hours. The results are shown in Table 2.

Concentration (%)	Conversion (%)	Optical purity (%a.e.)	Configuration	E-value
1	52,9	93,7	(S)	38
2	54,2	88,6	(S)	20
5	63,1	87,9	(S)	9
10	65,0	92,6	(S)	9

Table 2

20

Example 4

A test tube equipped with a stopper was charged with 100 mg (0.292 m mol) of ($\pm$)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-

56

benzonitrile, 50 mg of Novozym 435 (product of Novozymes), 333 mg (2.92 m mol) of vinyl butyrate, 0.292 m mol of various kinds of additives and 1 ml of toluene, and stirred at the temperature of 40°C for 16 hours. The results are shown in Table 3.

Additive	Conversion (%)	Optical purity (%a.e.)	Configuration	E-value
Sulfuric acid	39,8	14,7	(S)	2
Acetic acid	34,4	46,0	(S)	24
Hydrochloric acid	27,1	16,2	(S)	3
Benzoic acid	62,9	98,2	(S)	16
Triethylamine	74,8	99,7	(S)	11
Pyridine	65,4	96,5	(S)	11
Benzoic acid A Triethylamine	66,0	92,0	(S)	8
Benzoic acid A Pyridine	58,1	97,3	(S)	23
None	73,5	97,4	(S)	8

5 Table 3

Example 5

10 In a 200-ml four-necked flask equipped with a stirrer and a thermometer, 1.5 g (4.38 m mol) of (±)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile was dissolved in 30 ml of toluene, then 0.45 g of Novozym 435 (product of Novozymes), 0.347 g (4.38 m mol) of pyridine, 4.38 m mol of various kinds of acids and 1.00 g (8.76 m mol) of vinyl butyrate were added, and stirred at 40°C for between 16 and 21.5 hours. The result is shown in Table 4.

57

Acid	Conversion (%)	Optical purity (%e.e.)	Configuration	B-value
Salicylic acid	54,7	95,9	(S)	33
p-Ethylbenzoic acid	64,9	97,5	(S)	13
o-Toluic acid	64,5	97,3	(S)	13
m-Toluic acid	66,3	96,6	(S)	11
p-Toluic acid	55,4	98,9	(S)	44
o-Anisic acid	59,3	94,9	(S)	17
4-Chlorophenylacetic acid	59,5	96,3	(S)	18
3-Phenylpropionic acid	46,2	74,4	(S)	31
1-Naphthoic acid	67,8	83,3	(S)	6
Benzoic acid	59,7	99,9	(S)	37
Butyric acid	53,7	89,6	(S)	24
Isobutyric acid	61,8	97,1	(S)	16
Isovaleric acid	55,3	94,8	(S)	27
Pivalic acid	58,2	97,8	(S)	25
Caproic acid	60,3	96,1	(S)	17
Cyclohexanecarboxylic acid	55,2	95,4	(S)	30
None	59,1	95,5	(S)	18

Table 4

Example 6

5

In a 200-ml four-necked flask equipped with a stirrer and a thermometer, 3.0 g (8.76 m mol) of (±)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile was dissolved in 30 ml of toluene, then 0.9 g of Novozym 435 (product of Novozymes), 0.693 g (8.76 m mol) of pyridine, 8.76 m mol of

10

various kinds of acids and 2.00 g (17.52 m mol) of vinyl butyrate were added, and stirred at 40°C for between 15.5 and 16.5 hours. The results are shown in Table 5.

Acid	Reaction time (hrs)	Conversion (%)	Optical purity (%a.e.)	Configuration	E-value
<i>o</i> -Toluic acid	16,5	59,8	97,9	(<i>S</i>)	21
<i>p</i> -Toluic acid	19,5	35,8	29,8	(<i>S</i>)	4
Benzoic acid	17	25,6	28,4	(<i>S</i>)	14
Pivalic acid	15	62,4	99,6	(<i>S</i>)	23
Cyclohexanecarboxylic acid	16,5	59,4	97,0	(<i>S</i>)	20

Table 5

Example 7

5

In a 200-ml four-necked flask equipped with a stirrer and a thermometer, 4.5 g (13.1 m mol) of (±)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile was dissolved in 30 ml of toluene, then 0.90 g of Novozym 435 (product of Novozymes), 2.68 g (26.2 m mol) of pivalic acid and 10 0.900 to 1.500 g (0.6 to 1.0 eq.) of vinyl butyrate were added, and stirred at 40°C for 24 hours. The results are shown in Table 6.

Equivalent of Vinyl butyrate	Conversion (%)	Optical purity (%a.e.)	Configuration	E-value
0,6	45,8	73,8	(<i>S</i>)	32
0,8	54,4	95,9	(<i>S</i>)	35
1,0	54,8	96,5	(<i>S</i>)	35

Table 6

15

Example 8

In a 500-ml separable flask equipped with a stirrer and a thermometer, 20.0 g (58.4 mmol) of (±)-4-(4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl)-3-hydroxymethylbenzonitrile was dissolved in 144 ml of toluene, then pivalic acid (1.1 to 3 eq.), 4.0 g of Novozym 435 (product of Novozymes) and 6.67 g (58.4 m mol) of vinyl butyrate were added, and stirred at 40°C for 20 to 24 hours in a flow of nitrogen 20 (5 ml/min). The results are shown in Table 7.

equivalent of Pivalic acid	Reaction time	Conversion	Optical purity	Configuration	E-value
	(hrs)	(%)	(%e.e.)		
0	21,5	70,7	98,0	(S)	9
1,1	21	59,9	98,2	(S)	21
1,5	20	58,0	98,0	(S)	26
2,0	21	56,9	98,0	(S)	31
3,0	24	55,2	97,3	(S)	35

Table 7

5 **Example 9**

10 A test tube equipped with a stopper was charged with 10 mg (0.029 m mol) of (±)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, 10 mg of Novozym 435 (product of Novozymes), 0.29 m mol of various kinds of acyl donor and 1 ml of diisopropyl ether, and stirred at 30°C for 16 hours. For the substrate with the optical purity of at least 30% ee, E-values were calculated. The results are shown in Table 8.

Acyl donor	Conversion	Optical purity	Configuration	E-value
	(%)	(%e.e.)		
Vinyl acetate	55,0	35,9	(S)	3
Vinyl propionate	46,8	53,9	(S)	7
Vinyl butyrate	66,3	98,3	(S)	13
Vinyl caproate	4,6			
n-Butyric anhydride	69,0	76,7	(S)	4
iso-Valeric anhydride	38,6	5,80	(S)	
iso-Butyric anhydride	32,5	3,30	(S)	

Table 8

15

Example 10

A test tube equipped with a stopper was charged with 10 mg (0.029 m mol) of (±)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile,

10 mg of Novozym 435 (product of Novozymes), 33 mg (0.29 m mol) of vinyl butyrate and 1 ml of various kinds of solvents, and stirred at 30°C for 16 hours. After the reaction, converted ratios and optical purities were analyzed and E-values were calculated. The results are shown in Table 9.

Solvent	Conversion	Optical purity	Configuration	E-value
	(%)	(%e.e.)		
tert-Butyl methyl ether	59,3	91,8	(S)	14
1,4-Dioxane	11,1			
Tetrahydrofuran	6,19			
Diisopropyl ether	66,3	98,3	(S)	13
Diethyl ether	59,7	95,8	(S)	17
Acetone	11,8			
Methyl isobutyl ketone	33,0			
Ethanol	7,09			
Butanol	6,56			
Ethyl acetate	10,8			
Butyl acetate	11,7			
Toluene	52,9	93,7	(S)	38
Hexane	40,7			
Dichloroethane	13,8			
Acetonitrile	25,5			
Dimethylformamide	5,83			
Dimethylsulfoxide	8,78			
Vinyl butyrate	57,0	95,0	(S)	22

Table 9

Example 11

10

A 200-ml four-necked flask equipped with stirrer and thermometer was charged with 0.9 to 1.35 g (E/S ratios are 0.2 to 0.3) of Novozym 435 (product of Novozym). A solution of 4.5 g (13.1 mmol) of (±)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile in 30 ml of toluene, 2.01 g of pivalic acid (19.7 m mol), and 1.50 g (13.1 m mol) of vinyl butyrate was added into the flask,

15

and stirred at between 35 and 45°C for 21 hours. After the reaction, reaction fluid was separated by decantation, and the remaining enzyme was washed with 30 ml of toluene and recovered. The same operation as described above except for using the recovered enzyme was repeated four times to carry out the recycle reaction. Enzyme activities were calculated according to the following equation. The results are shown in Table 10.

$$\text{Enzyme activity (U/g)} = \frac{\text{(Product amount produced per minute (\mu\text{mol}/\text{min}))}}{\text{(Enzyme weight (g))}}$$

Batches	Enzyme activity (U/g)		
	35 °C (E/S=0.30)	40 °C (E/S=0.25)	45 °C (E/S=0.20)
1	8,61	12,75	17,37
2	10,31	12,93	17,70
3	9,75	12,50	15,48
4	9,39	12,16	15,06
5	9,01	11,14	13,10

Table 10

Example 12

(S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile pivalic acid salt

A four-necked flask equipped with stirrer and thermometer was charged with 66.6 g of a solution of 10.0 g (0.029 mol) of (±)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile in toluene, and the temperature thereof was controlled so as to be 40°C. Then, 2.27 g (0.029 mol) of pyridine, 2.98 g (0.029 mol) of pivalic acid, 3.35 g (0.029 mol) of vinyl butyrate, and 2.0 g of an immobilized enzyme (Novozym 435) was added into the above mixture. The reaction mixture was stirred at 40°C for 15 hours under a slight flow of nitrogen and stirring was stopped. The enzyme was filtrated from the reaction mixture with Kiriama funnel, and the enzyme was washed with 21.6 g of toluene. As a result, it was obtained (S)- 4-[4-

dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile (3.6 g, 0.011 mol, yield: 36.0%, optical purity: 98.5 %ee), pivalic acid salt.

The combined toluene layer was washed three times with water (50 ml, 30 ml, 30 ml) at 20°C, and an aqueous layer containing (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile (3.5 g, 0.011 mol, extraction yield: 95%), pivalic acid salt was obtained.

Example 13

10 (S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile pivalic acid salt

A four-necked flask equipped with stirrer and thermometer was charged with 66.7 g of a solution of 20.0 g (0.058 mol) of (±)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile in toluene, and the temperature thereof was controlled so as to be 40°C. Then, 5.93 g (0.058 mol) of pivalic acid, 6.62 g (0.058 mol) of vinyl butyrate, and 4.1 g of an immobilized enzyme (Novozym 435) was added into the above mixture. The reaction mixture was stirred at 40°C for 18 hours under a slight flow of nitrogen and stirring was stopped. The enzyme was filtered from the reaction mixture with Kiriya funnel, and the enzyme was washed with 41.3 g of toluene. As a result, 6.7 g (0.020 mol) of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, pivalic acid salt was obtained in the toluene solution, with a yield of 33.5% and an optical purity of 99.7 %ee.

Example 14

(S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile cyclohexanecarboxylic acid salt

30 A four-necked flask equipped with stirrer and thermometer was charged with 250.0 g of a solution of 25.0 g (0.073 mol) of (±)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile in toluene, and the temperature thereof was controlled so as to be 40°C. Then, 5.77 g (0.073 mol) of pyridine, 8.33 g (0.073 mol) of vinyl butyrate, 9.52 g (0.073 mol) of cyclohexanecarboxylic acid, and 5.0 g of

an immobilized enzyme (Novozym 435) was added into the above mixture. The reaction mixture was stirred at 40°C for 17.5 hours under a slight flow of nitrogen and stirring was stopped. The enzyme was filtrated, and washed with 54.1 g of toluene. As a result, a toluene layer containing (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile (8.6 g, 0.025 mol, yield: 34.4%, optical purity: 98.7% ee), cyclohexanecarboxylic acid salt was obtained.

The combined toluene layer was washed five times with water (187.5 ml x 5) at 20°C, and an aqueous layer containing (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile (7.6 g, 0.0221 mol, extraction yield: 89%), cyclohexanecarboxylic acid salt was obtained.

Example 15

(S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile o-toluic acid salt

A four-necked flask equipped with stirrer and thermometer was charged with 250.0 g of a solution of 25.0 g (0.073 mol) of (±)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile in toluene, and the temperature thereof was controlled so as to be 40°C. Then, 5.77 g (0.073 mol) of pyridine, 8.33 g (0.073 mol) of vinyl butyrate, 9.93 g (0.073 mol) of o-toluic acid, and 5.0 g of an immobilized enzyme (Novozym 435) was added into the above mixture. The reaction mixture was stirred at 40°C for 21 hours under a slight flow of nitrogen, and then stirring was stopped. The enzyme was filtrated from the reaction mixture with Kiriya funnel, and washed with 54.1 g of toluene. As a result, a toluene layer containing (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile (9.7 g, 0.028 mol, yield: 38.8%, optical purity: 97.8% ee), o-toluic acid salt was obtained.

The combined toluene layer was washed three times with water (250 ml, 63 ml, 63 ml) at 60°C, and an aqueous layer containing (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile (7.8 g, 0.0228 mol, extraction yield: 80%), o-toluic acid salt was obtained.

Example 16**(S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile isobutyric acid salt**

5

A four-necked flask equipped with stirrer and thermometer was charged with 33.3 g of a solution of 10.0 g (0.029 mol) of ($\pm$)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile in toluene, and the temperature thereof was controlled so as to be 40°C. Then, 2.29 g (0.029 mol) of pyridine, 2.57 g (0.029 mol) of iso-butyric acid, 3.33 g (0.029 mol) of vinyl butyrate, and 2.0 g of an immobilized enzyme (Novozym 435) was added into the above mixture. The reaction mixture was stirred at 40°C for 24 hours under a slight flow of nitrogen and stirring was stopped. The enzyme was filtrated off from the reaction mixture with Kiriyaama funnel, and washed with 21.6 g of toluene. As a result, a toluene layer containing (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile (3.8 g, 0.011 mol, yield: 38.0%, optical purity: 95.9% ee), isobutyric acid salt was obtained.

10
15**Example 17**

20

(S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile benzoic acid salt

A four-necked flask equipped with stirrer and thermometer was charged with 250.0 g of a solution of 50.0 g (0.146 mol) of ($\pm$)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile in toluene, and the temperature thereof was controlled so as to be 40°C. Then, 11.5 g (0.146 mol) of pyridine, 33.2 g (0.291 mol) of vinyl butyrate, 17.8 g (0.146 mol) of benzoic acid, and 10.0 g of an immobilized enzyme (Novozym 435) was added into the above mixture. The reaction mixture was stirred at 40°C for 20 hours under a slight flow of nitrogen, and then stirring was stopped. The enzyme was filtrated from the reaction mixture with Kiriyaama funnel, and washed with 108 g of toluene. As a result, a toluene layer containing (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-

25
30

3-hydroxymethylbenzonitrile (22.0 g, 0.064 mol, yield: 44.0%, optical purity: 99.0% ee), benzoic acid salt was obtained.

The combined toluene layer was washed three times with water (500 ml x 3) at 60°C, and an aqueous layer containing (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile (21.0 g, 0.0614 mol, extraction yield: 96%), benzoic acid salt was obtained.

The following examples 18 to 28 illustrate the separation of S-diol from the reaction mixture.

10

Example 18

A test tube equipped with a stopper was charged with 4.3 mg (0.0126 mmol) of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile (compound A), 6.8 mg (0.0165 mmol) of (R)-5-cyano-2-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-benzyl butyrate (compound B), 1 ml of toluene, 1 ml of water, and 0.291 m mol of various kinds of acids (in the case of a dibasic acid, 0.146 m mol is used), and stirred at 40°C for 1 hour. Thus-obtained mixed solvent was separated into aqueous layer and toluene layer, and then the concentrations of compound A and B in each layer were measured. Partition coefficients K_a or K_b are calculated according to the following equation. The results are shown in Table 11.

$$K_a = (\text{Concentration of the compound A in aqueous layer}) / (\text{Concentration of the compound A in toluene layer})$$
$$K_b = (\text{Concentration of the compound B in aqueous layer}) / (\text{Concentration of the compound B in toluene layer})$$

15

20

25

Acid	Partition coefficient		Ka/Kb
	Ka	Kb	
<i>o</i> -Nitrobenzoic acid	30,7	0,45	68,3
<i>m</i> -Nitrobenzoic acid	19,5	0,08	237
Salicylic acid	13,0	0,06	212
<i>p</i> -Hydroxybenzoic acid	70,8	0,31	226
<i>o</i> -Chlorobenzoic acid	22,8	0,30	76,7
<i>m</i> -Chlorobenzoic acid	4,98	0,04	122
<i>p</i> -Chlorobenzoic acid	7,01	0,06	123
<i>p</i> -Fluorobenzoic acid	14,4	0,12	120
<i>p</i> -Bromobenzoic acid	2,28	0,03	73,0
<i>o</i> -Toluic acid	9,11	0,05	172
<i>m</i> -Toluic acid	6,00	0,03	215
<i>p</i> -Toluic acid	5,97	0,02	249
<i>o</i> -Methoxybenzoic acid	27,1	0,38	71,1
<i>m</i> -Methoxybenzoic acid	9,23	0,07	136
<i>p</i> -Methoxybenzoic acid	12,3	0,10	122
4-Biphenylcarboxylic acid	0,87	0,04	24,9
3-Phenylpropionic acid	5,67	0,02	229
Benzoic acid	18,4	0,08	244
Isobutyric acid	39,2	0,17	225
Isovaleric acid	24,4	0,10	241
Pivalic acid	9,03	0,10	92,6
Caproic acid	5,04	0,03	181
Cyclohexanecarboxylic acid	3,89	0,03	168
Phthalic acid	20,8	0,33	63,8
Isophthalic acid	7,43	0,29	25,4
Terephthalic acid	16,8	0,15	113
<i>p</i> -Toluenesulfonic acid	164	3,61	45,4
Malonic acid	38,5	1,29	29,8
Oxalic acid	1092	5,73	190
Succinic acid	24,1	0,44	54,6
Maleic acid	31,1	1,03	30,0
None	0,17	0,08	2,2

Table 11

Example 19**(S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile pivalic acid salt**

5

The enzyme was filtrated from the enzyme reaction mixture obtained by the method according to Example 1, and washed twice with toluene. Thus-obtained 1174.3 g of a toluene solution containing (S)- 4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile (44.8 g, 0.131 mol), pivalic acid salt was added 600.3 g of water and extracted. Further twice extraction with 359.7 g of water gave 1375.9 g of an aqueous solution of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, pivalic acid salt. The aqueous solution contained 43.8 g (0.128 mol, yield: 97.8%) of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile. Optical purity: 98.4%ee, (R)-5-cyano-2-[dimethylamino-(4'-fluorophenyl)-hydroxybutyl] benzyl butyrate: 10.7 area%.

10

15

Example 20**(S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile pivalic acid salt**

20

To 12.6 g of an aqueous solution of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile pivalic acid salt {content of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile: 0.4 g, 1.168 mmol}, which was separately obtained according to the method of Example 19, was added with 1.4 g (0.018 mol) of ammonium acetate. Then 1.0 g of toluene was added therein and the mixture was stirred for 10 minutes. After standing for 30 minutes, the organic layer was discarded by separating the mixture solution, and an aqueous layer containing (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile (0.389 g, 1.136 mmol, yield: 97.3%), pivalic acid salt was obtained. By HPLC analysis, it was found that chemical purity was 97.3 area % and (R)-5-cyano-2-[dimethylamino-(4'-fluorophenyl)-hydroxybutyl] benzyl butyrate: 1.5 area % was contained.

25

30

Example 21

5 (S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-
benzonitrile pivalic acid salt

To 12.6 g of an aqueous solution of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile pivalic acid salt {content of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile: 0.4 g, 1.168 mmol}, which was separately obtained according to the method of Example 19, was added with 1.4 g (0.013 mol) of lithium sulfate. Then 1.0 g of toluene was added therein and the mixture was stirred for 10 minutes. After standing for 30 minutes, the organic layer was discarded by separating the mixture solution, and an aqueous layer containing (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, pivalic acid salt (0.394 g, 1.151 mmol, yield: 98.5%) was obtained. By HPLC analysis, it was found that chemical purity was 93.7 area % and (R)-5-cyano-2-[dimethylamino-(4'-fluorophenyl)-hydroxybutyl] benzyl butyrate: 5.5 area % was contained.

20 **Example 22**

(S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-
benzonitrile pivalic acid salt

25 To 12.6 g of an aqueous solution of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile pivalic acid salt {content of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile: 0.4 g, 1.168 mmol}, which was separately obtained according to the method of Example 19, was added with 1.4 g (0.011 mol) of ammonium sulfate. Then 1.0 g of toluene was added therein and the mixture was stirred for 10 minutes. After standing for 30 minutes, the organic layer was discarded by separating the mixture solution, and an aqueous layer containing (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, pivalic acid salt (0.397 g, 1.159 mmol, yield: 99.3%) was obtained. By HPLC analysis, it was found that chemical purity was

94.7 area % and (R)-5-cyano-2- [dimethylamino- (4'-fluorophenyl)-hydroxybutyl] benzyl butyrate: 4.5 area%, was contained.

Example 23

5

(S)-4-[4-Dimethylamino-1- (4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-Benzonitrile pivalic acid salt

To 12.6 g of an aqueous solution of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile pivalic acid salt {content of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile: 0.4 g, 1.168 mmol}, which was separately obtained according to the method of Example 19, was added with 1.4 g (0.0099 mol) of sodium sulfate. Then 1.0 g of toluene was added therein and the mixture was stirred for 10 minutes. After standing for 30 minutes, the organic layer was discarded by separating the mixture solution, and an aqueous layer containing pivalic acid salt of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile (0.391 g, 1.142 mmol, yield: 97.8%) was obtained. By HPLC analysis, it was found that chemical purity was 94.5 area % and (R)-5-cyano-2- [dimethylamino- (4'-fluorophenyl)-hydroxybutyl] benzyl butyrate: 4.7 area % was contained.

Example 24

(S)-4-[4-Dimethylamino-1- (4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile pivalic acid salt

25

To 12.6 g of an aqueous solution of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile pivalic acid salt {content of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile: 0.4 g, 1.168 mmol}, which was separately obtained according to the method of Example 19, was added with 0.7 g (0.012 mol) of sodium chloride. Then 1.0 g of toluene was added therein and the mixture was stirred for 10 minutes. After standing for 30 minutes, the organic layer was discarded by separating

30

the mixture solution, and an aqueous layer containing pivalic acid salt of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-

3-hydroxymethylbenzonitrile (0.397 g, 1.159 mmol, yield 99.3%) was obtained. By HPLC analysis, it was found that chemical purity was 93.3 area % and (R)-5-cyano-2-

5 [dimethylamino- (4'-fluorophenyl)-hydroxybutyl] benzyl butyrate: 5.8 area % was contained.

Example 20-24 compared to example 19 show that the separation improves by the addition of salts.

10

Example 25

(S)-4-[4-Dimethylamino-1- (4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile pivalic acid salt

15

The enzyme was filtrated from the enzyme reaction mixture obtained by the method according to Example 1, and washed twice with toluene. Thus-obtained 19.4 g of a toluene solution containing 1.0 g (2.92 mmol) of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, pivalic acid was
20 adjusted so as to be 40 °C and 13 mL of water was added to the solution and extracted. The solution was further extracted twice with 7.5 mL of water, to obtain a solution of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, pivalic acid salt. In the above aqueous solution, 0.886 g (2.588 mmol, yield: 88.6%) of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-
25 hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile was contained.

Example 26

(S)-4-[4-Dimethylamino-1- (4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile pivalic acid salt

30

The enzyme was filtrated from the enzyme reaction mixture obtained by the method according to Example 1, and washed twice with toluene. Thus-obtained 19.4 g of a toluene solution containing 1.0 g (2.920 mmol) of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-

fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, pivalic acid was adjusted so as to be 40°C and 11.6 mL of water was added to the solution and extracted. The solution was extracted further three times with 5.8 mL of water to obtain a solution of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, pivalic acid salt. In the above aqueous solution, 0.879 g (2.567 mmol, yield 87.9%) of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile was contained.

Example 27

(S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile pivalic acid salt

The enzyme was filtrated from the enzyme reaction mixture obtained by the method according to Example 1, and washed twice with toluene. Thus-obtained 10.4 g of toluene solution containing 1.0 g (2.92 mmol) of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, pivalic acid was added 13.0 mL of water and extracted. The solution was extracted further twice with 7.5 mL of water to obtain an aqueous solution of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, pivalic acid salt. In the above aqueous solution, 0.954 g (2.786 mmol, yield 95.4%) of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile was contained.

Example 28

(S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile pivalic acid salt

The enzyme was filtrated from the enzyme reaction mixture obtained by the method according to Example 1, and washed twice with toluene. Thus-obtained 19.4 g of a toluene solution containing 1.0 g (2.90 mmol) of (S)-4-[4-dimethylamino-1-

(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, pivalic acid salt was added with 0.43 g (4.210 mmol) of pivalic acid and the mixture was extracted with 13.0 mL of water. The solution was further extracted twice with 7.5 mL of water to obtain an aqueous solution of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile, pivalic acid salt. In the above aqueous solution, 0.947 g (2.766 mmol, yield: 94.7%) of (S)-4-[4-dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile was contained.

A comparison of example 25, 26, 27 and 28 show that an improved separation is obtained by addition of pivalic acid whereas more washings and regulation of the temperature does not have great influence on the separation.

Example 29

15 (S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile

To a stirred solution of racemic 4-[4-Dimethylamino-1-(4-fluoro-phenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile (0,29 mmol, 100 mg) and vinylbutyrate (3,9 mmol, 0,5 ml) in anhydrous 1,4-dioxane (2,5 ml) is added lipoprotein lipase pseudomonas sp. (160 U, 5 mg). The reaction is heated to 37 °C and followed by HPLC. After 162 hours (at a conversion of 33,9%) the enzyme is filtered off and washed with a small amount of 1,4-dioxane. The combined organic phases are evaporated *in vacuo* and subsequently analyzed on super critical fluid chromatography to give (R)-butyrate ester with 72% ee and (S)-diol with 28% ee.

Example 30

30 (S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethylbenzonitrile

To a stirred solution of racemic 4-[4-Dimethylamino-1-(4-fluoro-phenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile (0,29 mmol, 100 mg) and vinylbutyrate (0,58 mmol, 73,6 µl) in anhydrous 1,4-dioxane (3,0 ml) is added lipoprotein lipase

pseudomonas sp. (160 U, 4 mg). The reaction is heated to 37 °C and followed by HPLC. After 194 hours at a conversion of 18,7 %, the enzyme is filtered off and washed with a small amount of 1,4-dioxane. The combined organic phases are evaporated *in vacuo* and subsequently analyzed on super critical fluid chromatography to give (R)-butyrate ester with 92% ee and (S)-diol with 14% ee. The reaction was also monitored using 1, 4 and 8 equivalent vinylbutyrate as shown in table 12.

Entr y	Vinylbuty rate	Time (h)	Conversio n (%)	Ester		Diol	
				% EE	Configurati on	% EE	Configurati on
1	1 eq.	194	6,2 (0,5)	79	(R)	5	(S)
2	2 eq.	194	18,7 (1,0)	92	(R)	14	(S)
3	4 eq.	194	19,1 (2,0)	86	(R)	14	(S)
4	8 eq.	194	22,6 (4,0)	86	(R)	15	(S)

Table 12 (Numbers in brackets are conversion without enzyme)

10

Example 31

(S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile

15

To a stirred solution of racemic 4-[4-Dimethylamino-1-(4-fluoro-phenyl)-1-hydroxy-butyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile (0,29 mmol, 100 mg) and vinylbutyrate (0,59 mmol, 75 µl) in anhydrous 1,4-dioxane (2,925 ml) is added lipoprotein lipase pseudomonas sp. (160 U, 5 mg). The reaction is heated to 50 °C and followed by HPLC. After 165 hours at a conversion of 30,4 %, the enzyme is filtered off and washed with a small amount of 1,4-dioxane. The combined organic phases are evaporated *in vacuo* and subsequently analyzed on super critical fluid chromatography to give (R)-butyrate ester with 98,1% ee and (S)-diol with 30,3% ee. The reaction was also monitored at 25, 37 and 65 °C as shown in table 13.

25

Entry	Temp	Time (h)	Conversion (%)	Ester		Diol	
				%	Configurat	%	Configurat
				EE	ion	EE	ion
1	25°C	238	5,8 (0,5)	97,9	(R)	5,1	(S)
2	37°C	238	12,5 (1,4)	99,1	(R)	8,5	(S)
3	50°C	165	30,4 (1,9)	98,1	(R)	30,3	(S)
4	50°C	238	32,2 (3,0)	97,3	(R)	32,1	(S)
5	65°C	238	26,3 (7,6)	64,1	(R)	21,9	(S)

Table 13 (Numbers in brackets are conversion without enzyme)

Example 32

5

(S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile

To a stirred solution of racemic 4-[4-Dimethylamino-1-(4-fluoro-phenyl)-1-hydroxy-
10 butyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile (0,29 mmol, 100 mg) and vinylbutyrate (0,59
mmol, 75 µl, 2. eq.) in anhydrous 1,4-dioxane (2,925 ml) is added lipoprotein lipase
pseudomonas sp. (160 U, 4,5 mg). The reaction is heated to 50 °C and followed by
HPLC. After 209 hours, the enzyme is filtered off and washed with a small amount of
1,4-dioxane. The combined organic phases are evaporated *in vacuo* and subsequently
15 analyzed on super critical fluid chromatography to give (R)-butyrate ester and (S)-
diol. The reaction was also monitored with (200 mg, 500 mg and 1000 mg diol and
respectively 150 µl, 375 µl and 750 µl vinylbutyrate and 2,85 ml, 2,625 ml and 2,25
ml 1,4-dioxane as shown in table 14.

20

Entr	Conc.	Time	Conversion	Ester		Diol	
				% EE	Configurati	% EE	Configurati
					on		on
y		(h)	(%)				

75

1	0,1 M	209	30,6 (2,6)	84,1	(R)	33,1	(S)
2	0,2 M	209	32,5 (4,9)	62,9	(R)	28,7	(S)
3	0,5 M	209	50,6 (29,6)	32,3	(R)	29,1	(S)
4	1,0 M	209	69,3 (66,3)	8,7	(R)	24,9	(S)

Tabel 14

Example 33

5 (S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile

To a stirred solution of racemic 4-[4-Dimethylamino-1-(4-fluoro-phenyl)-1-hydroxy-butyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile (0,29 mmol, 100 mg) and vinylbutyrate (0,59
10 mmol, 75 µl) in anhydrous 1,4-dioxane (2,925 ml) is added lipoprotein lipase pseudomonas sp. (160 U, 4 mg). The reaction is heated to 50 °C and followed by HPLC. After 473 hours, the enzyme is filtered off and washed with a small amount of 1,4-dioxane. The combined organic phases are evaporated *in vacuo* and subsequently analyzed HPLC. The result is shown in table 15.

15

Entry	Added water %(w/w)	Time (h)	Conversion (%)
1	0	473	33,9
2	0,1	473	20,1
3	1,0	473	0,1
4	10	473	0

Table 15

Example 34

20

(S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile

To a stirred solution of racemic 4-[4-Dimethylamino-1-(4-fluoro-phenyl)-1-hydroxy-butyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile (2,9 mmol, 1000 mg) and vinylbutyrate (5,9 mmol, 750 µl) in anhydrous 1,4-dioxane (14,25 ml) is added lipoprotein lipase pseudomonas sp. (160 U, 20 mg). The reaction is heated to 50 °C and followed by HPLC. After 139 hours, additional 5 mg lipase was added. After 155 hours, additional 15 mg lipase was added. After 399 hours, at a conversion of 55,7 % a sample was collected. The enzyme is filtered off and washed with a small amount of 1,4-dioxane. The combined organic phases are evaporated *in vacuo* and subsequently analyzed on super critical fluid chromatography. After 560 hours at a conversion of 62,8 %, the reaction was stopped. The enzyme is filtered off and washed with a small amount of 1,4-dioxane. The combined organic phases are evaporated *in vacuo* and subsequently analyzed on super critical fluid chromatography. The obtained ee-values are shown in table 16.

				<i>Ester</i>		<i>Diol</i>	
Entr	Time	Conversion	% EE	Configuration	% EE	Configuration	n
y	(h)	(%)					
1	399	55,7	75,7	(R)	79,5	(S)	
2	560	62,8	59,5	(R)	94,5	(S)	

Table 16

Example 35

(S)-citalopram diol analogues

To a stirred solution of racemic citalopram diol analogue (0,29 mmol, 100 mg) and vinylbutyrate (0,29 mmol, 37 µl) in anhydrous 1-4-dioxane (2,925 ml) is added 4-10 mg PspLL. The reaction is heated to 50 degrees celcius and followed by HPLC. After reaction was stopped, the enzyme is filtered off and washed with a small amount of toluene. The combined organic phases are evaporated *in vacuo* and subsequently analyzed on super critical fluid chromatography. Result is shown in table 17.

77

Entr	Analogue	Time	Conversion (%)	Ester		Diol	
				% EE	Conf	% EE	Conf
y		(h)					
1	5-Bromo	409	56,4 (8,9)	67,1	R	46,3	S
2	5-	456	20,5 (5,0)	11,7	R	20,5	S
	Carboxamide						
3	5-Iodo	143	28,0 (1,9)	98,9	R	29,9	S
4	5-Chloro	244	30,5 (4,6)	54,7	R	24,3	S
5	5-Formyl	244	33,9 (8,3)	88,5	R	13,9	S

Table 17 (Numbers in brackets are conversion without enzyme)

Example 36

5 (S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile

To a stirred solution of racemic 4-[4-Dimethylamino-1-(4-fluoro-phenyl)-1-hydroxy-butyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile (29 mmol, 10 g) and vinylbutyrate (58 mmol, 10
10 7,5 ml) in anhydrous 1,4-dioxane (142,5 ml) is added lipoprotein lipase pseudomonas sp. (160 U, 250 mg). The reaction is heated to 50 °C and followed by HPLC. After 192 hours at a conversion of 41%, additional 250 mg lipase was added. After 504 hours, at a conversion of 63 % the reaction was stopped. The enzyme is filtered off and washed with a small amount of 1,4-dioxane. The combined organic phases are
15 evaporated *in vacuo* and subsequently analyzed on super critical fluid chromatography. Obtained EE-value ((S-diol) = 95% (S-diol/R-diol = 40:1).

Example 37

20 Isolation of (S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile by flash-chromatography

78

A mixture of 372 mg S-citalopram diol with ee-value 94,5% and 628 mg R-citalopram diol butyrate ester with ee-value 59,5% was dissolved in a minimum of ethylacetate/heptane 4:1 with 4% triethylamine. The S-citalopram diol was isolated using flash-chromatography in ethylacetate/heptane 4:1 with 4% triethylamine to
5 obtained 120 mg S-citalopram diol (ee-value 94,5%).

Example 38

Isolation of. (S)-4-[4-Dimethylamino-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile by washing a mixture containing the S-diol base
10

To a mixture of S-citalopram diol and R-citalopram diol butyrate ester (0,3g each) was added 24 ml heptane and 66 ml water/methanol (2:1). The clear solution was transferred to a separation funnel and organic phase was collected. Additional 10 ml
15 heptane was added to aqueous phase and mixed thoroughly. Organic phase was collected. Ekstraktion repeated additional 4 times. The combined heptane phases were extracted with 20 ml water/methanol (2:1) and aqueous phases were combined and evaporated to half volume and extracted with 3 times 10 ml ethylacetate. The combined ethylacetate phases were dried with Na₂SO₄, filtered and dried in vacuo to
20 obtaine 0,15 g S-citalopram diol containing 2% R-citalopram diol butyrate ester.

Example 39

(S)-citalopram diol analogues using Novozymes 435
25

To a stirred solution of racemic citalopram diol analogue (0,29 mmol, 100 mg) and vinylbutyrate (0,29 mmol, 37 µl) in anhydrous toluene (2,925 ml) is added 0,2 mg Novozymes 435 and (0,32 mmol, 33 mg) pivalic acid. The reaction is heated to 40 degrees celcius and followed by HPLC. After reaction was stopped, the enzyme is
30 filtered off and washed with a small amount of toluene. The combined organic phases are evaporated . *in vacuo* and subsequently analyzed on super critical fluid chromatography. Result is shown in table 18.

Entr y	Analogue	Time (h)	Conversion (%)	Ester		Diol	
				% EE	Conf	% EE	Conf
1	5-Bromo	24	54	74,9	R	97,1	S
2	5- Carboxamide	96	33	81,3	R	41,7	S
3	5-Iodo	24	54	99,9	R	99,5	S
4	5-Chloro	24	51	74,9	R	96,3	S
5	5-Formyl	24	33	61,1	R	21,5	S

Table 18

Example 40

5 The influence of various carboxylic acids on the enzymatic acylation using Novozymes 435

10 To a stirred solution of racemic 4-[4-Dimethylamino-1-(4-fluoro-phenyl)-1-hydroxy-butyl]-3-hydroxymethyl-benzonitrile (0,29 mmol, 100 mg) and vinylbutyrate (0,29 mmol, 37 µl) in anhydrous toluene (2,925 ml) is added Novozymes 435, (0,2 mg) and 1,1 eq. Carboxylic acid. The reaction is heated to 40 degrees celcius and followed by HPLC. The enzyme is filtered off and washed with a small amount of toluene. The combined organic phases are evaporated *in vacuo* and subsequently analyzed on super critical fluid chromatography. Result is shown in table 19.

15

Entr y	Carboxylic acid	Time (h)	Conversion (%)	Ester		Diol	
				% EE	Conf	% EE	Conf
1	Acetic acid	24	18	92,1	R	65,7	S

80

76

2	Propionic acid	24	34	89,7	R	94,7	S
3	Pivalic acid	24	55	88,3	R	85,5	S
4	Cyclohexancarboxylic acid	24	55	84,5	R	99,7	S
5	Benzoic acid	72	50	92,3	R	86,7	S
6	Hydrocinnamic acid	72	48	94,1	R	84,3	S
7	Isovaleric acid	48	51	88,3	R	90,7	S
8	Decanoic acid	72	53	82,9	R	86,9	S
9	Isobutyric acid	48	53	86,9	R	92,7	S
10	Crotonic acid	72	54	82,9	R	95,1	S
11	2-ethylbutyric acid	24	50	87,1	R	94,3	S
12	Palmitic acid	48	54	71,3	R	93,3	S

Table 19

Example 41

5 (R)-5-Cyano-2- [dimethylamino- (4'-fluorophenyl)-hydroxybutyl] benzyl butyrate

A four-necked flask equipped with stirrer and thermometer was charged with 219 g of a solution containing 21.9 g (0.064 mol) of (±)-4-[4-dimethylamino-1- (4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl]-

10 3-hydroxymethylbenzonitrile in toluene. Then, 14.6 g (0.128 mmol) of vinyl butyrate, 5.07 g (0.128 mol) of pyridine, 7.89 g (0.064 mol) of benzoic acid and 2.19 g of an immobilized enzyme (Novozym 435) were added into the above mixture. The reaction mixture was allowed to warm up to 60 °C and stirred for 15 hours under a slight flow of nitrogen and stirring was stopped. The enzyme was filtrated off from

15 the reaction mixture with Kiriama funnel, and washed with 50 g of toluene. The combined toluene layer was washed twice with water (255 ml, 265 ml) and concentrated to give 14.9 g of (R)-5-Cyano-2- [dimethylamino- (4'-fluorophenyl)-hydroxybutyl] benzyl butyrate benzoic acid salt.

To a mixture of 4.0 g of (R)-5-Cyano-2- [dimethylamino- (4'-fluorophenyl)-hydroxybutyl] benzyl butyrate benzoic acid salt (7.48 mmol), 40 ml of water and 40 ml of toluene were added 1.26 g of 30% sodium hydroxide (9.45 mol) with stirring, the mixture was kept stirring for 30 minutes. After stirring, the mixture was allowed to stand and the toluene layer was separated. The toluene layer was washed with 40 ml of water and concentrated at 40 °C under reduced pressure, to thereby obtain 2.7 g of (R)-5-Cyano-2- [dimethylamino- (4'-fluorophenyl)-hydroxybutyl] benzyl butyrate. ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ(ppm) : 7.69 (1H, s), 7.68-7.56 (2H, m), 7.36-7.23 (2H, m), 7.02-6.90 (2H, m), 5.41 (1H, d, J = 14.9 Hz), 4.99 (1H, d, J = 14.6 Hz), 2.59-2.42 (1H, m), 2.40-2.30 (3H, m), 2.26 (2H, dt, J = 7.3 Hz, 1.5 Hz), 2.18 (6H, s), 1.68-1.57 (2H, m), 1.67-1.46 (2H, m), 0.93 (3H, t, J = 7.6 Hz).

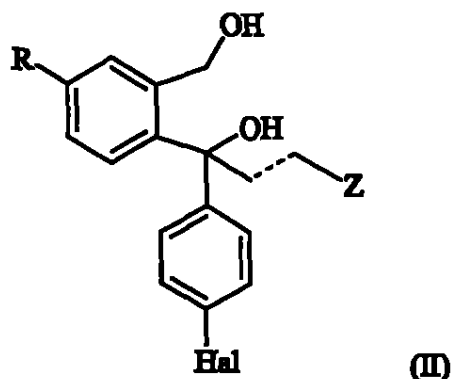
Example 42

15 Escitalopram, oxalate

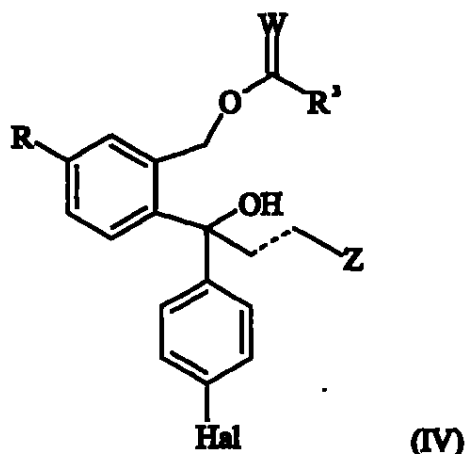
(S)-4-(4-Dimethylamino)-1-(4'-fluorophenyl)-1-hydroxybutyl)-3-hydroxymethylbenzonitrile (15.8 g, 46.2 mmol) having a chemical purity of 99% and an ee of 98.7% as determined by Chiral Supercritical Fluid Chromatography, was dissolved in toluene (100 mL). Triethylamine (13.0 mL, 93.2 mmol) was added followed by slow addition of a solution of tosyl chloride (9.4 g, 49.4 mmol) in toluene (100mL). The resulting solution was stirred at room temperature for 20 min. then added water (50 mL) and conc. Ammonia (25 mL). The mixture was stirred at 45 °C for 2 min, transferred to a separatory funnel. The phases were separated and the organic phase was washed with water (50 mL), dried with MgSO₄, filtered and concentrated under reduced pressure to give the crude product (14.2 g) in 95% yield. The crude product was dissolved in ethanol (17 mL) and was added a solution of oxalic acid (3.95 g, 43.9 mmol) in ethanol (27 mL). The precipitate was collected by filtration to give Escitalopram, oxalate (14.0 g), which was re-crystallised from ethanol (85 mL) to give the final product (12.2 g). The purity was determined to be 99.65% by HPLC. The ee was 98.5% determined by Chiral Supercritical Fluid Chromatography.

Claims:

1. A method for the preparation of the S- or R-enantiomer of a diol having the formula



- 5 wherein R is cyano or a group which may be converted to a cyano group, Z is a group $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R}'\text{R}'')$ wherein R' and R'' are C_{1-6} -alkyl, or R' and R'' are connected to each other to form a cyclic structure including the N-atom to which they are attached, or Z is a group which may be converted to a dimethylaminomethyl group, the dotted line is
 10 a double or single bond and Hal is halogen, or a salt thereof and/or the opposite enantiomer of an acylated diol having the formula

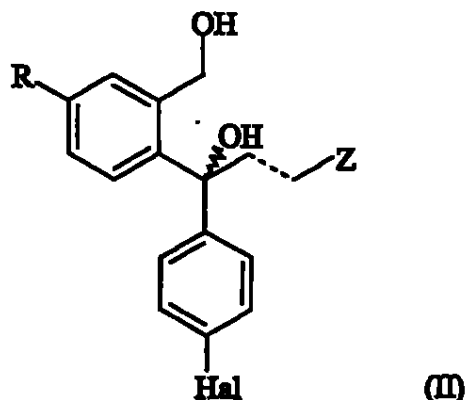


- 15 wherein R, Z, the dotted line and Hal are as defined above, W is O or S, and R^3 is $-\text{Y}-\text{R}^1$, wherein R^1 is C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl or C_{2-10} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino, di-
 (C₁₋₁₀-alkyl)amino, aryl, aryloxy, arylthio and heteroaryl, or R^1 is aryl, wherein any of the aryl and heteroaryl groups may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl, C_{2-10} -alkynyl, C_{1-10} -alkoxy,

C₁₋₁₀-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₁₀-alkylamino and di-(C₁₋₁₀-alkyl)amino and Y is a bond, O, S or NH, or a salt thereof, comprising

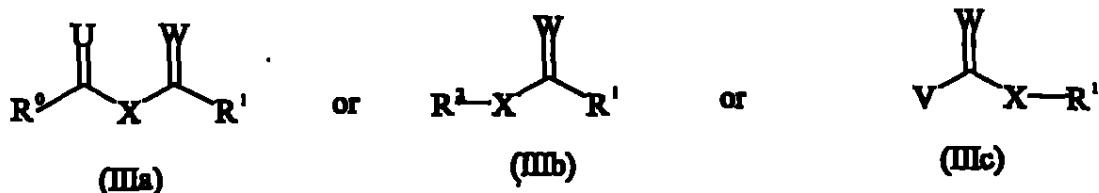
a) subjecting a racemic compound of formula

5



wherein R, Z, the dotted line and Hal are as defined above, to selective enzymatic acylation using an acylating agent having the formula

10



or an isocyanate having the formula R¹-N=C=O or an isothiocyanate having the formula R¹-N=C=S;

15

wherein X is O or S; W is O or S; U is O or S, V is halogen;

R⁰ is C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl or C₂₋₁₀-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₁₀-alkoxy, C₁₋₁₀-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₁₀-alkylamino, di-(C₁₋₁₀-alkyl)amino, aryl, aryloxy, arylthio and heteroaryl, or R⁰ is aryl, wherein any of the aryl and heteroaryl groups may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl, C₂₋₁₀-alkynyl, C₁₋₁₀-alkoxy, C₁₋₁₀-

20

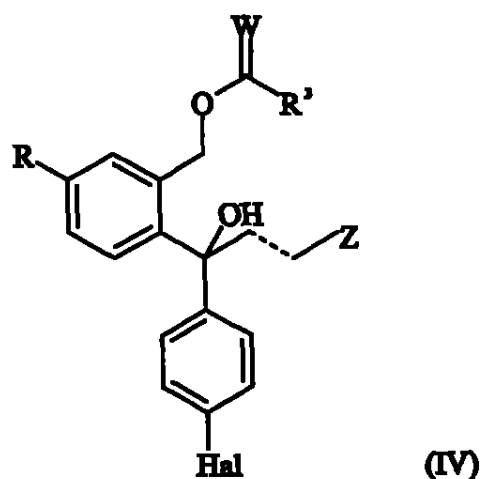
alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₁₀-alkylamino and di-(C₁₋₁₀-alkyl)amino;

R¹ is as defined for R⁰;

5 R² is as defined for R⁰, or R² is a suitable leaving group;

or R⁰ and R¹ together form a chain of 3 to 5 carbon atoms;

10 provided that W and U is not S when X is S; to form a mixture of the starting material of formula (II) in either the R- or the S-form and opposite enantiomer of a compound having the formula

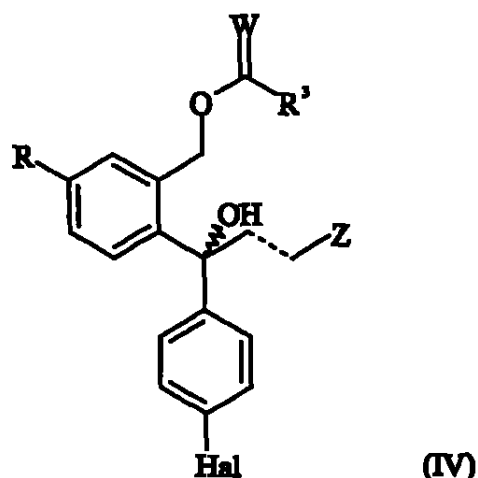


15 wherein R, W, Hal, R³, the dotted line and Z are as defined above; or

b) subjecting a racemic compound of formula

85

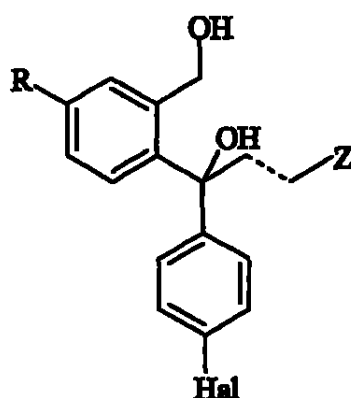
81



(IV)

wherein R, Z, W, Hal, the dotted line and R³ are as defined above; to selective enzymatic deacylation to form a mixture of deacylated compound of formula

5



(II)

wherein R, Hal, the dotted line and Z are as defined above in either the R- or the S-form and the acylated starting material of formula (IV) in the form of the opposite enantiomer;

10

optionally followed by, in either order, isolation of the S- or R-enantiomer of the compound of formula (II) and/or the opposite enantiomer of the compound of formula (IV) or a salt thereof.

15 2. The method according to claim 1 a).

3. The method according to claim 1 b).

4. The method according to any of claims 1-2 wherein the acylation of the compound of formula (II) results in a mixture containing the compound of formula (II) in the S-form and the compound of formula (IV) in the R-form.
- 5 5. The method according to any of claims 1-2 wherein the acylation of the compound of formula (II) results in a mixture containing the compound of formula (II) in the R-form and the compound of formula (IV) in the S-form.
6. The method according to any of claims 1 and 3 wherein the deacylation of the
10 compound of formula (IV) results in a mixture containing the compound of formula (IV) in the S-form and the compound of formula (II) in the R-form.
7. The method according to any of claims 1 and 3 wherein the deacylation of the compound of formula (IV) results in a mixture containing the compound of formula
15 (IV) in the R-form and the compound of formula (II) in the S-form.
8. The method according to any of claims 1-7 wherein Hal is fluoro and R is halogen or cyano, preferred R is cyano.
- 20 9. The method according to any of claims 1-8 wherein the dotted line represents a single bond.
10. The method according to any of claims 1-9 wherein and Z is dimethylaminomethyl or a group that may be converted to a dimethylaminomethyl
25 group, preferred Z is a dimethylaminomethyl group.
11. The method according to any of claims 1-2, 4-5 and 8-10 wherein the acylating agent is a compound selected from the compounds of formula (IIIa), (IIIb) and (IIIc).
- 30 12. The method according to claim 11 wherein the acylating agent is a compound selected from the compounds of formula (IIIa) and (IIIb).

13. The method according to claim 12 wherein the acylating agent is a compound of formula (IIIa).
14. The method according to claim 12 wherein the acylating agent is a compound
5 of formula (IIIb).
15. The method according to claim 11 wherein the acylating agent is a compound of formula (IIIc).
- 10 16. The method according to any of claims 11-13 wherein U is O.
17. The method according to any of claims 11-16 wherein W is O.
18. The method according to claims 11-17 wherein X is O.
15
19. The method according to any of claims 11-18 wherein R^0 , R^1 and R^2 are independently selected from C_{1-4} -alkyl, C_{2-4} -alkenyl and C_{2-4} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-4} -alkoxy, C_{1-4} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-4} -alkylamino and di-
20 (C_{1-4} -alkyl)amino or R^2 is a leaving group, such as succinimidyl, HOBt and pfp or R^0 and R^1 together form a chain of 3-5 carbon atoms.
20. The method according to claim 19 wherein R^0 , R^1 and R^2 are independently selected from C_{1-3} -alkyl, C_{2-3} -alkenyl and C_{2-3} -alkynyl all of which may optionally be
25 substituted one or more times with substituents selected from C_{1-3} -alkoxy, C_{1-3} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-3} -alkylamino and di-(C_{1-3} -alkyl)amino.
21. The method according to claim 20 wherein R^0 and R^1 are C_{1-3} -alkyl and R^2 is
30 C_{1-3} -alkyl substituted one or more times with halogen or R^2 is C_{2-3} -alkenyl.
22. The method according to claim 13 wherein R^0 and R^1 are independently selected from C_{1-4} -alkyl, C_{2-4} -alkenyl and C_{2-4} -alkynyl all of which may optionally be

substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₄-alkoxy, C₁₋₄-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₄-alkylamino and di-(C₁₋₄-alkyl)amino.

- 5 23. The method according to claim 22 wherein wherein R⁰ and R¹ are independently selected from C₁₋₃-alkyl, C₂₋₃-alkenyl or C₂₋₃-alkynyl all of which may all optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₃-alkoxy, C₁₋₃-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₃-alkylamino and di-(C₁₋₃-alkyl)amino.

10

24. The method according to claim 22 wherein R⁰ and R¹ are C₁₋₄-alkyl.

25. The method of claim 24 wherein R⁰ and R¹ are C₁₋₃-alkyl, suitable methyl, ethyl or propyl, preferred propyl.

15

26. The method of claim 14 wherein R¹ and R² are independently is selected from C₁₋₄-alkyl, C₂₋₄-alkenyl and C₂₋₄-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₄-alkoxy, C₁₋₆-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₄-alkylamino and di-(C₁₋₄-alkyl)amino or R² is a leaving group, such as succinimidyl, HOBT and pfp.

20

27. The method of claim 26 wherein R¹ is selected from C₁₋₃-alkyl, C₂₋₃-alkenyl or C₂₋₃-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₃-alkoxy, C₁₋₃-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₃-alkylamino and di-(C₁₋₃-alkyl)amino and R² is C₁₋₄-alkyl substituted or more times with halogen or R² is C₂₋₄-alkenyl.

25

28. The method according to claim 27 wherein R¹ is C₁₋₃-alkyl, C₂₋₃-alkenyl and C₂₋₃-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₃-alkoxy, C₁₋₃-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₃-alkylamino and di-(C₁₋₃-alkyl)amino and R² is C₁₋₃-alkyl substituted one or more times with halogen or R² is C₂₋₃-alkenyl.

30

29. The method according to claim 27 wherein R¹ is C₁₋₃-alkyl.

30. The method according to claim 29 wherein R^1 is C_{1-3} -alkyl, such as methyl, ethyl or propyl and C_{1-3} -alkyl substituted one or more times with halogen or R^2 is C_{2-3} -alkenyl.
- 5 31. The method according to claim 30 wherein R^2 is vinyl.
32. The method according to claim 31 wherein R^1 is propyl.
- 10 33. The method according to claim 15 wherein R^1 is C_{1-4} -alkyl, C_{2-4} -alkenyl and C_{2-4} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-4} -alkoxy, C_{1-4} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-4} -alkylamino and di- $(C_{1-4}$ -alkyl)amino.
- 15 34. The method according to claim 33 wherein R^1 is C_{1-3} -alkyl, C_{2-3} -alkenyl and C_{2-3} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with C_{1-3} -alkoxy, C_{1-3} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-3} -alkylamino and di- $(C_{1-3}$ -alkyl)amino.
- 20 35. The method according to claim 34 wherein R^1 is C_{1-3} -alkyl, C_{2-3} -alkenyl or C_{2-3} -alkynyl, preferred R^1 is C_{1-3} -alkyl, such as methyl, ethyl or propyl, preferred propyl
36. The method according to any of claims 1-2, 4-5 and 8-10 wherein the acylating agent is an isocyanate of formula $R^1-N=C=O$ or an isothiocyanate of the
- 25 formula $R^1-N=C=S$.
37. The method according to claim 36 wherein the acylating agent is an isothiocyanate of the formula $R^1-N=C=S$.
- 30 38. The method according to claim 36 wherein the acylating reagent is an isocyanate of formula $R^1-N=C=O$.
39. The method according to any of claims 36-38 wherein R^1 is C_{1-4} -alkyl, C_{2-4} -alkenyl or C_{2-4} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times

with substituents selected from C₁₋₄-alkoxy, C₁₋₄-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₄-alkylamino and di-(C₁₋₄-alkyl)amino.

40. The method according to any of claims 39 wherein R¹ is C₁₋₃-alkyl, C₂₋₃-alkenyl or C₂₋₃-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with C₁₋₃-alkoxy, C₁₋₃-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₃-alkylamino and di-(C₁₋₃-alkyl)amino.

41. The method according to claim 40 wherein R¹ is C₁₋₃-alkyl, C₂₋₃-alkenyl or C₂₋₃-alkynyl.

42. The method of claim 41 wherein R¹ is methyl, ethyl, or propyl, preferred propyl.

43. The method according to any of claims 1, 3 and 6-10 wherein the racemic compound of formula (IV) used is a compound wherein Y is O, or S.

44. The method according to claim 43 wherein the racemic compound of formula (IV) is a compound wherein Y is O.

45. The method according to claim 43 wherein the racemic compound of formula (IV) used is a compound wherein Y is S.

46. The method according to any of claims 1, 3 and 6-10 wherein the racemic compound of formula (IV) used is a compound wherein Y is a bond.

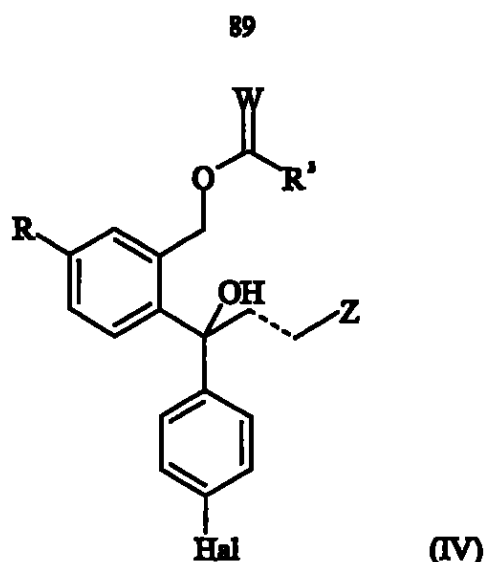
47. The method according to any of claims 1, 3 and 6-10 wherein the racemic compound of formula (IV) used is a compound wherein Y is NH.

48. The method according to any of claims 43-47 wherein R¹ is C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl or C₂₋₁₀-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₁₀-alkoxy, C₁₋₁₀-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₁₀-alkylamino and di-(C₁₋₁₀-alkyl)amino.

49. The method of claim 48 wherein R¹ is C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl or C₂₋₁₀-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from hydroxy, halogen, amino, nitro and cyano.
- 5 50. The method according to claim 49 wherein R¹ is C₁₋₁₀-alkyl.
51. The method according to any of claims 1-2, 4-5 and 8-42 wherein the enzymatic acylation is performed with a hydrolase, such as a lipase, an esterase, an acylase or a protease.
- 10 52. The method according to any of claims 1, 3, 6-10 and 40-50 wherein the enzymatic deacylation is performed with a hydrolase, such as a lipase, an esterase, an acylase or a protease.
- 15 53. The method according to any of claims 51-52 wherein the hydrolase is used in the form of an immobilized enzyme or Cross-Linked Enzyme Crystal (CLEC) enzymes.
54. The method according to any of claims 51-53 wherein the enzyme used is
- 20 selected from *Pseudomonas* sp. lipoprotein lipase, *Candida antarctica* lipase B and *Thermomyces lanuginosus* lipase or a mutant or variant of these enzymes.
55. The method according to any of claims 51-54 wherein the enzyme is
- 25 *Pseudomonas* sp. lipoprotein lipase or a mutant or variant of *Pseudomonas* sp. lipoprotein lipase.
56. The method according to claim 55 wherein the enzyme used is *Pseudomonas* sp. lipoprotein lipase.
- 30 57. The method according to any of claims 51-54 wherein the enzyme is *Candida antarctica* lipase B or a mutant or variant of *Candida antarctica* lipase B.
58. The method according to claim 57 wherein the enzyme is *Candida antarctica* lipase B.

92

59. The method according to claim 58 wherein the enzyme is Novozyme®435.
60. The method according to any of claims 51-54 wherein the enzyme is
5 Thermomyces lanuginosus lipase or a mutant or variant of Thermomyces lanuginosus lipase.
61. The method according to claim 60 wherein the enzyme is Thermomyces
lanuginosus lipase.
- 10 62. The method according to claim 61 wherein the enzyme is Lipozyme™ TL IM.
63. The method according to any of claims 1- 62 wherein the enzymatic acylation
15 or the enzymatic deacylation is carried out in presence of an organic base or an organic acid or a mixture thereof.
64. The method according to claim 63 wherein the enzymatic acylation or
enzymatic deacylation is carried out in the presence of an organic acid.
- 20 65. The method according to claim 64 wherein the enzymatic acylation is carried out in presence of an organic acid.
66. The method according to any of claims 64-65 wherein the organic acid is an
25 aromatic carboxylic acid or an aliphatic carboxylic acid.
67. The method according to any of claims 63-66 wherein the organic acid is
selected from n-propionic acid, iso-propionic acid, n-butyric acid, iso-butyric acid,
iso-valeric acid, 2-ethylbutyric acid, cyclohexanecarboxylic acid, pivalic acid, benzoic
30 acid, p-toluic acid, salicylic acid and 3-phenylpropionic acid.
68. The method according to claim 67 wherein the organic acid is pivalic acid.
69. The S- or R-enantiomer of a compound having the formula (IV)



wherein R is cyano or a group which may be converted to cyano, Z is a group $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R}'\text{R}'')$ wherein R' and R'' are C_{1-6} -alkyl, or R' and R'' are connected to each other to form a cyclic structure including the N-atom to which they are attached, or Z is a group which may be converted to a dimethylaminomethyl group, Hal is halogen, W is O or S, the dotted line represents a double or a single bond, R^3 is $-\text{Y}-\text{R}^1$, wherein R^1 is C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl or C_{2-10} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino, di- $(\text{C}_{1-10}$ -alkyl)amino, aryl, aryloxy, arylthio and heteroaryl, or R^1 is aryl, wherein any of the aryl and heteroaryl groups may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl, C_{2-10} -alkynyl, C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino and di- $(\text{C}_{1-10}$ -alkyl)amino and Y is a bond, O, S or NH, or a salt thereof.

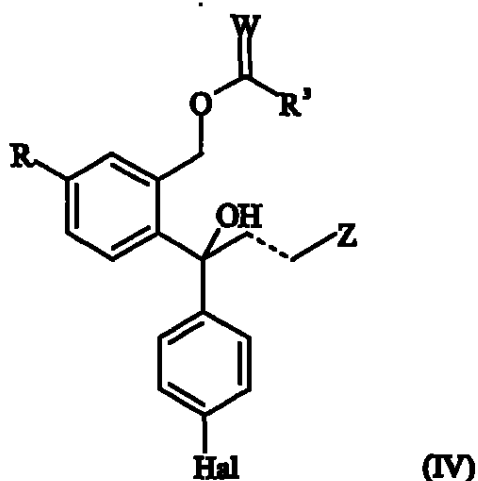
70. The enantiomer according to claim 69 wherein Hal is fluoro, R is halogen or cyano, preferred R is cyano.

71. The enantiomer according to any of claims 69- 70 wherein the dotted line represents a single bond.

72. The enantiomer according to any of claims 70-71 wherein Z is dimethylaminomethyl or a group that may be converted to a dimethylaminomethyl group, preferred Z is dimethylaminomethyl.

73. The enantiomer according to any of claims 69-72 wherein Y is O or S.
74. The enantiomer according to claim 73 wherein Y is O.
- 5 75. The enantiomer according to claim 73 wherein Y is S.
76. The enantiomer according to any of claims 69 – 72 wherein Y is a bond.
- 10 77. The enantiomer according to any of claims 69-72 wherein Y is NH.
78. The enantiomer according to any of claims 69-77 wherein R¹ is C₁₋₄-alkyl, C₂₋₄-alkenyl or C₂₋₄-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₄-alkoxy, C₁₋₄-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₆-alkylamino and di-(C₁₋₄-alkyl)amino.
- 15 79. The enantiomer according to claim 78 wherein R¹ is C₁₋₃-alkyl, C₂₋₃-alkenyl or C₂₋₃-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₃-alkoxy, C₁₋₃-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₃-alkylamino and di-(C₁₋₃-alkyl)amino.
- 20 80. The enantiomer according to claim 79 wherein R¹ is C₁₋₃-alkyl.
81. The enantiomer according to any of claims 69-77 wherein R¹ is C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl or C₂₋₁₀-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C₁₋₁₀-alkoxy, C₁₋₁₀-alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C₁₋₆-alkylamino and di-(C₁₋₁₀-alkyl)amino.
- 25 82. The enantiomer according to claim 81 wherein R¹ is C₁₋₁₀-alkyl, C₂₋₁₀-alkenyl or C₂₋₁₀-alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from hydroxy, halogen, amino, nitro and cyano.
- 30 83. The enantiomer according to claim 82 wherein R¹ is C₁₋₁₀-alkyl, preferably unbranched C₁₋₁₀-alkyl.

84. A method for the isolation and purification of the compound having the formula



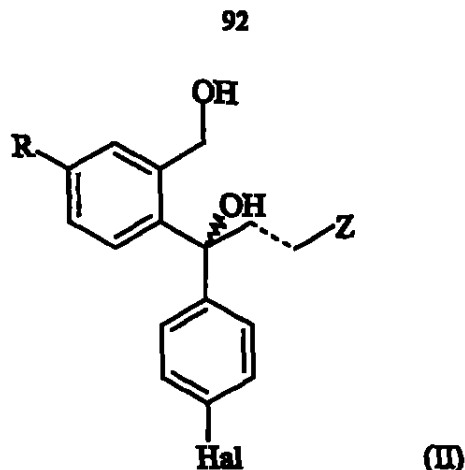
5

wherein R is cyano or a group which may be converted to a cyano group, the dotted line represents a double or single bond, Hal is halogen, Z is a group $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R}'\text{R}'')$ wherein R' and R'' are C_{1-6} -alkyl, or R' and R'' are connected to each other to form a cyclic structure including the N-atom to which they are attached, or Z is a group which may be converted to a dimethylaminomethyl group, W is O or S and R^3 is $-\text{Y}-\text{R}^1$ wherein Y is a bond, O, S or NH and R^1 is C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl or C_{2-10} -alkynyl all of which may optionally be substituted with one or more substituents selected from C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino, di- $(\text{C}_{1-10}$ -alkyl)amino, aryl, aryloxy, arylthio and heteroaryl, or R^1 is aryl, wherein any of the the aryl and heteroaryl groups may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl, C_{2-10} -alkynyl, C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino and di- $(\text{C}_{1-10}$ -alkyl)amino, or a salt thereof

20

and/or the diol of formula

96



wherein R, Z, Hal and the dotted line are as defined above, or a salt thereof, from a mixture containing the compound of formula (IV) and the diol of formula (II), which

5 comprises:

a) treating said mixture containing the compound of formula (IV) and the diol of formula (II) in a mixture of water and an organic solvent in the presence of an acid;

b) separating the aqueous phase containing the diol of formula (II) as a salt of said acid from the organic phase to obtain an organic phase containing the compound of formula (IV) as a salt of said acid; and

optionally isolating the compound of formula (II) as the base or as a salt thereof and optionally isolation of the compound of formula (IV) as the base or a salt thereof.

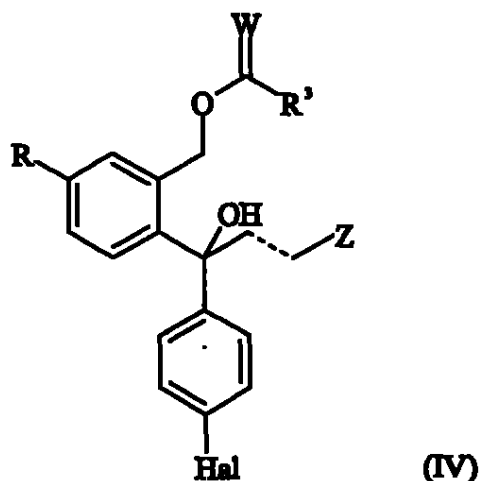
15

85 The method according to claim 84 wherein the S-enantiomer of the diol of formula (II) is separated from the R-enantiomer of the acyl derivative of formula (IV).

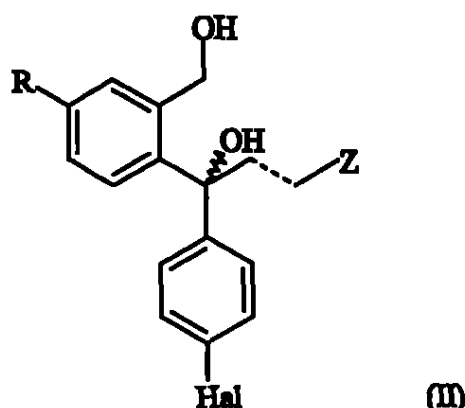
20 86. The method according to claim 84 wherein the S-enantiomer of the acyl derivative of formula (IV) is separated from the R-enantiomer of the diol of formula (II).

25 87. The method according to claims 84-86 wherein the mixture of the R- or S-enantiomer of an acyl derivative of formula (IV) and the opposite enantiomer of an diol of formula (II) used in step a) has been prepared according to the method in claims 1-62

88. A method for isolation and purification of the acyl derivative having the formula



wherein R is cyano or a group which may be converted to a cyano group, Hal is halogen, the dotted line represents a double or a single bond, Z is a group $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R}'\text{R}'')$ wherein R' and R'' are C_{1-6} -alkyl, or R' and R'' are connected to each other to form a cyclic structure including the N-atom to which they are attached, or Z is a group which may be converted to a dimethylaminomethyl group, W is O or S; and R³ is $-\text{Y}-\text{R}^1$ wherein Y is a bond, O, S or NH and R¹ is C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl or C_{2-10} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino, di- $(\text{C}_{1-10}$ -alkyl)amino, aryl, aryloxy, arylthio and heteroaryl, or R¹ is aryl, wherein any of the the aryl and heteroaryl groups may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl, C_{2-10} -alkynyl, C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino and di- $(\text{C}_{1-10}$ -alkyl)amino, or a salt thereof and/or the diol of formula



wherein R, Hal, Z and the dotted line are as defined above, from a mixture containing the acyl derivative of formula (IV) and the diol of formula (II), which comprises:

- 5 a) treating said mixture containing the acyl derivative of formula (IV) and the diol of formula (II) in a mixture of water, a protic organic solvent and an apolar organic solvent;
- b) separating the aqueous phase containing the diol of formula (II), from the organic phase to obtain an organic phase containing the acyl derivative of formula (IV); and

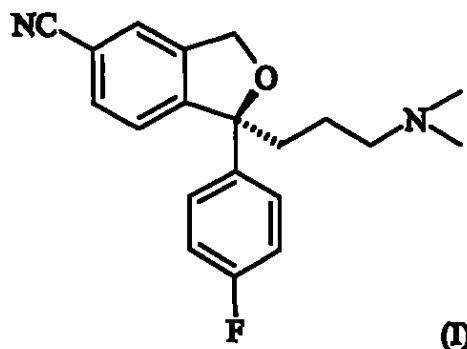
optionally isolating the diol of formula (II) and/or the compound of formula (IV) from the aqueous/organic phase, and optionally conversion of the compound of formula (II) and /or (IV) to salt thereof.

89. The method according to claim 88 wherein the S-diol of the diol of formula (II) is separated from the R-enantiomer of the acyl derivative of formula (IV).

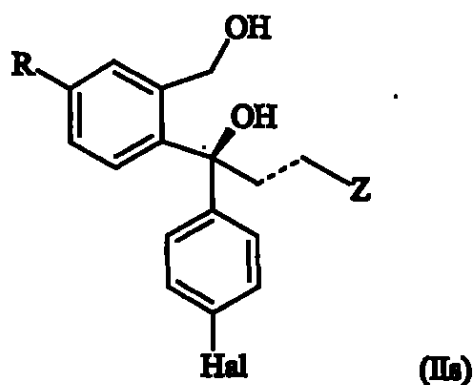
20 90. The method according to claim 88 wherein the S-enantiomer of the acyl derivative of formula (IV) is separated from the R-enantiomer of the diol of formula (II).

25 91. The method according to claims 88-90 wherein the mixture of the R- or S-enantiomer of a compound of formula (IV) and the opposite enantiomer of a compound of formula (II) used in step a) has been prepared according to the method in claims 1-62

92. A process for the preparation of escitalopram having the formula



5 or a pharmaceutically acceptable salt thereof comprising preparation of the S-enantiomer of a diol having the formula



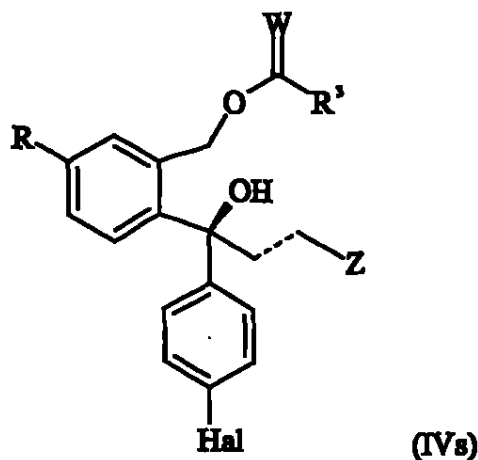
10

wherein R is cyano or a group which may be converted to a cyano group, the dotted line represents a double or a single bond, Z is a dimethylaminomethyl group or a group which may be converted to a dimethylaminomethyl group and Hal is halogen, or a salt thereof,

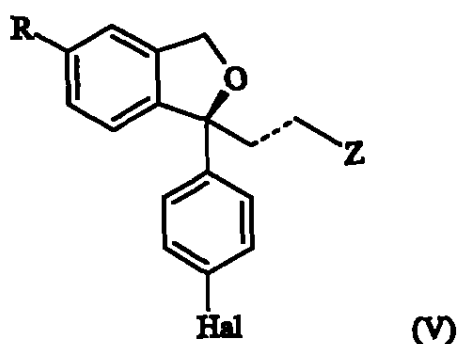
15

or the S-enantiomer of an acylated diol having the formula

96



- wherein R, Z, the dotted line and Hal are as defined above, W is O or S, and R^3 is $Y-R^1$, wherein R^1 is C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl or C_{2-10} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino, di-
 5 $(C_{1-10}$ -alkyl)amino, aryl, aryloxy, arylthio and heteroaryl, or R^1 is aryl, wherein any of the aryl and heteroaryl groups may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl, C_{2-10} -alkynyl, C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino and di- $(C_{1-10}$ -alkyl)amino and Y is a bond, O, S or NH, or a salt thereof, by the method in any of
 10 claims 1-62, optionally followed by, in either order, conversion of the group R to a cyano group, conversion of the group Z to a dimethylaminomethyl group, reduction of a double bond represented by the dotted line to a single bond and /or conversion of the
 15 group Hal to a fluoro group and then ringclosure under basic conditions of the S-enantiomer of formula (IIa) or (IVa) or a labile ester derivative thereof to form a compound of formula

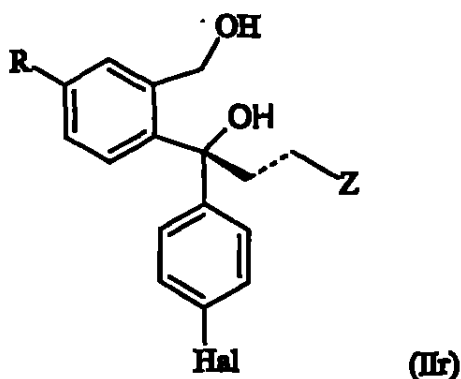


followed by in either order, if R is not cyano conversion of the group R to a cyano group, if Z is not dimethylaminomethyl conversion of the group Z to a dimethylaminomethyl group, if the dotted line represents a double bond reduction to a single bond and if Hal is not fluoro, conversion of Hal to a fluoro group, followed by
5 isolation of escitalopram or a pharmaceutically acceptable salt thereof.

93. The method according to claim 92 wherein the mixture of the R- or S-enantiomer of a compound of formula (II) and the opposite enantiomer of the compound of formula (IV) obtained by enzymatic acylation has been separated from
10 each other by the isolation and purification process according to any of claims 84-87.

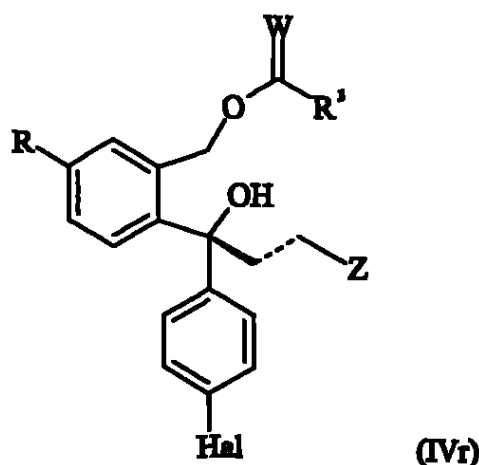
94. The method according to claim 92 wherein the R- or S-enantiomer of a compound of formula (II) and the opposite enantiomer of the compound of formula (IV) obtained by enzymatic acylation has been separated from each other by the
15 isolation and purification process according to any of claims 88-91.

95. A method for the preparation of racemic citalopram and /or escitalopram or a pharmaceutically acceptable salt thereof comprising preparation of the R-enantiomer of a diol having the formula
20



wherein R is cyano or a group which may be converted to a cyano group, the dotted
25 line represents a double or a single bond and Z is a dimethylaminomethyl group or a group which may be converted to a dimethylaminomethyl group and Hal is halogen, or a salt thereof,

or the R-enantiomer of an acylated diol having the formula



5

wherein R, Z, the dotted line Hal are as defined above, W is O or S, and R^3 is $-Y-R^1$, wherein R^1 is C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl or C_{2-10} -alkynyl all of which may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino, di- $(C_{1-10}$ -alkyl)amino, aryl, aryloxy, arylthio and heteroaryl, or R^1 is aryl, wherein any of the aryl and heteroaryl groups may optionally be substituted one or more times with substituents selected from C_{1-10} -alkyl, C_{2-10} -alkenyl, C_{2-10} -alkynyl, C_{1-10} -alkoxy, C_{1-10} -alkylthio, hydroxy, halogen, amino, nitro, cyano, C_{1-10} -alkylamino and di- $(C_{1-10}$ -alkyl)amino and Y is a bond, O, S or NH, or a salt thereof, by the method according

10

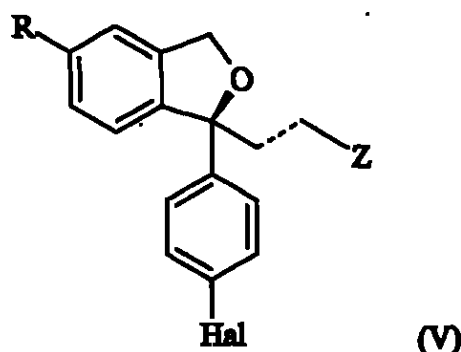
15

to any of claims 1-62, optionally followed by, in either order, conversion of the group R to a cyano group, reduction of a double bond represented by the dotted line to a single bond, conversion of the group Z to a dimethylaminomethyl group and /or conversion of the group Hal to a fluoro group and then ringclosure under acidic conditions of the R-enantiomer of formula (IIr) or (IVs) to form a mixture of the S-

20

enantiomer of the compound of formula

99



- and a minor amount of the corresponding R-enantiomer, followed by, in either order, if R is not cyano conversion of the group R to a cyano group and, if Z is not dimethylaminomethyl conversion of the group Z to a dimethylaminomethyl group, if the dotted line represents a double bond reduction to form a single bond and if Hal is not fluoro, conversion of Hal to a fluoro group, followed by isolation of escitalopram and/ or racemic citalopram or a pharmaceutically acceptable salt thereof.
96. The method according to claim 95 wherein the racemic citalopram is isolated by precipitation of racemic citalopram free base or a salt thereof and escitalopram is recovered from the mother liquor of the precipitation.
97. The method according to claim 95 wherein the mixture of the R- or S-enantiomer of a compound of formula (II) and the opposite enantiomer of the compound of formula (IV) obtained by enzymatic acylation has been separated from each other by the isolation and purification process according to any of claims 84-87.
98. The method according to claim 95 wherein the R- or S-enantiomer of a compound of formula (II) and the opposite enantiomer of the compound of formula (IV) obtained by enzymatic acylation has been separated from each other by the isolation and purification process according to any of claims 88-91.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DK 03/00537

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC7: C07B 57/00, C07D 307/87, C07C 255/53, C07C 253/34
According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC7: C07C, C07D, C07B, C12P

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

SE,DK,FI,NO classes as above

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-INTERNAL, WPI DATA, CHEM. ABS DATA

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 0012044 A2 (H. LUNDBECK A/S), 9 March 2000 (09.03.00), RN 260371-12-8, 260371-13-9, 260371-14-0, 260371-15-1, the claims, the examples --	1-98
X	EP 0347066 A1 (H. LUNDBECK A/S), 20 December 1989 (20.12.89) --	1-98
X	WO 9930548 A2 (H. LUNDBECK A/S), 24 June 1999 (24.06.99) --	1-98
A	US 4650884 A (KLAUS P. BOGESO), 17 March 1987 (17.03.87) --	1-98

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"B" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"Z" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

13 November 2003

Date of mailing of the international search report

19-11-2003

Name and mailing address of the ISA/

Swedish Patent Office

Box 5055, S-102 42 STOCKHOLM

Facsimile No. +46 8 666 02 86

Authorized officer

Gerd Strandell/ED

Telephone No. +46 8 782 25 00

105

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/DK 03/00537

C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 0216342 A1 (H. LUNDBECK A/S), 28 February 2002 (28.02.02)	1-98
A	WO 0166536 A1 (RESOLUTION CHEMICALS LIMITED), 13 Sept 2001 (13.09.01)	1-98
P,A	WO 03051861 A1 (H. LUNDBECK A/S), 26 June 2003 (26.06.03)	1-98
P,A	WO 03000672 A1 (H. LUNDBECK A/S), 3 January 2003 (03.01.03)	1-98
P,A	WO 03006449 A1 (H. LUNDBECK A/S), 23 January 2003 (23.01.03)	1-98

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/DK03/00537

Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☐ Claims Nos.:
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:

2. ☒ Claims Nos.: 54, 55, 57, 60 all in part
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:

see next sheet

3. ☐ Claims Nos.:
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:

4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest

- ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int'l application No.
PCT/DK03/00537

The wording "or a mutant or variant" is not clear and concise.
See PCT Article 6. Therefore, the search is incomplete.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

06/09/03

International application No.

PCT/DK 03/00537

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 0012044 A2	09/03/00	AU 742554 B	03/01/02
		AU 6326599 A	21/03/00
		BG 105617 A	31/01/02
		BR 9917108 A	16/10/01
		CA 2291133 A,C	25/04/01
		CH 692298 A	30/04/02
		CH 692421 A	14/06/02
		CZ 20012246 A	12/09/01
		DK 200100959 A	11/07/01
		EA 2801 B	00/00/00
		EP 1228056 A	07/08/02
		EP 1298124 A	02/04/03
		ES 2169709 A	01/07/02
		FI 20011316 A	20/06/01
		GB 0115030 D	00/00/00
		GB 2360281 A,B	19/09/01
		IL 143875 D	00/00/00
		IT 1314243 B	06/12/02
		IT MI992505 A	01/06/01
		JP 3365764 B	14/01/03
		JP 2002525273 T	13/08/02
		NO 20013185 A	24/08/01
		PL 349440 A	29/07/02
		SK 9242001 A	03/12/01
		TR 200101874 T	00/00/00
		US 6407267 B	18/06/02
		US 6566540 B	20/05/03
		US 2002035277 A	21/03/02
		US 2002177722 A	28/11/02

109
10

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

06/09/03

International application No.
PCT/DK 03/00537

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date		
EP	0347066 A1	20/12/89	SE	0347066 T3	
			AT	119896 T	15/04/95
			AU	623144 B	07/05/92
			AU	3629589 A	04/01/90
			CA	1339452 C	09/09/97
			CA	1339568 A,C	02/12/97
			CY	2081 A	16/10/98
			DE	68921672 D,T	27/07/95
			DK	11593 A	01/02/93
			DK	170280 B	24/07/95
			DK	259989 A	15/12/89
			ES	2068891 T	01/05/95
			FI	91527 B,C	31/03/94
			FI	98627 B,C	15/04/97
			FI	892823 A	15/12/89
			FI	941829 A	20/04/94
			FI	20000507 A	06/03/00
			GB	8814057 D	00/00/00
			GR	3015889 T	31/07/95
			HK	139596 A	02/08/96
			HU	211460 B	28/11/95
			HU	9500496 A	28/09/95
			IE	65734 B,L	15/11/95
			IE	891859 L	14/12/89
			IL	90465 A	24/01/95
			JP	2036177 A	06/02/90
			JP	3038204 B	08/05/00
			JP	3044253 B	22/05/00
			JP	11292867 A	26/10/99
			LU	90999 A	17/03/03
			MX	9203346 A	31/08/92
			NO	172892 B,C	14/06/93
			NO	892447 A	15/12/89
			NZ	229426 A	21/12/90
			PT	90845 A,B	29/12/89
			US	RE34712 E	30/08/94
			US	4943590 A	24/07/90
			ZA	8904476 A	25/04/90

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

06/09/03

International application No.
PCT/DK 03/00537

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
NO 9930548 A2	24/06/99	AT 237604 T	15/05/03
		AU 759716 B	17/04/03
		AU 3137899 A	05/07/99
		BR 9917346 A	26/02/02
		CA 2291129 C	22/10/02
		CZ 20013693 A	13/02/02
		DE 69907037 D	00/00/00
		DK 1173431 T	04/08/03
		DK 9900210 U	10/09/99
		EP 1173431 A,B	23/01/02
		SE 1173431 T3	
		IL 145615 D	00/00/00
		IT MI991580 A	15/01/01
		JP 2002509864 T	02/04/02
		NO 20015017 A	15/10/01
		PL 350803 A	10/02/03
		SI 1173431 T	00/00/00
		SK 14402001 A	04/04/02
		US 2002040153 A	04/04/02
US 4650884 A	17/03/87	AT 38661 T	15/12/88
		AU 574819 B	14/07/88
		AU 4577685 A	13/02/86
		CA 1237147 A	24/05/88
		DE 3566251 D	00/00/00
		DK 89595 A	10/08/95
		DK 172450 B	10/08/98
		DK 172713 B	14/06/99
		DK 356285 A	07/02/86
		EP 0171943 A,B	19/02/86
		SE 0171943 T3	
		ES 545885 A	01/04/86
		ES 8606257 A	01/10/86
		FI 81338 B,C	29/06/90
		FI 852902 A	07/02/86
		GB 8419963 D	00/00/00
		GR 851894 A	03/12/85
		IE 57817 B	21/04/93
		IE 851603 L	06/02/86
		IL 75690 A	31/10/88
		JP 1902596 C	08/02/95
		JP 6025099 B	06/04/94
		JP 61087654 A	06/05/86
		NO 160364 B,C	02/01/89
		NO 853091 A	07/02/86
		NZ 212541 A	30/05/88
		PT 80913 A,B	01/09/85
		ZA 8505026 A	25/06/86

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

06/09/03

International application No.
PCT/DK 03/00537

Patent document cited in search report			Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO	0216342	A1	28/02/02	AT	4946 U	25/01/02
				AT	5026 U	25/02/02
				AU	7960801 A	04/03/02
				AU	7960901 A	04/03/02
				AU	2001100271 A,B	13/09/01
				AU	2001100278 A,B	13/09/01
				BE	1013443 A	15/01/02
				BE	1013444 A	15/01/02
				CA	2354877 A	18/02/02
				CA	2354880 A,C	22/01/02
				CH	691968 A	15/12/01
				CH	691969 A	15/12/01
				CN	1339435 A	13/03/02
				CN	1339436 A	13/03/02
				CZ	20012958 A	17/04/02
				CZ	20012959 A	17/04/02
				DE	10140028 A	18/04/02
				DE	10140029 A	02/05/02
				DK	200101216 A	19/02/02
				DK	200101219 A	19/02/02
				EP	1309581 A	14/05/03
				EP	1309582 A	14/05/03
				ES	2170734 A	01/08/02
				ES	2170735 A	01/08/02
				FI	20011621 A	19/02/02
				FI	20011622 A	19/02/02
				FR	2813077 A	22/02/02
				FR	2813078 A	22/02/02
				GB	0119733 D	00/00/00
				GB	0119734 D	00/00/00
				GB	2362647 A,B	28/11/01
				GB	2365865 A,B	27/02/02
				HU	0103291 A	29/05/02
				HU	0103295 A	29/05/02
				IE	20010760 A	20/02/02
				IE	20010761 A	20/02/02
				IL	144816 D	00/00/00
				IL	144817 D	00/00/00
				NL	1018775 C	00/00/00
				NL	1018776 C	00/00/00
				NO	20013942 A	19/02/02
				NO	20013943 A	19/02/02
				US	6426422 B	30/07/02
				US	6509483 B	21/01/03
				US	2002025982 A	28/02/02
				US	2002026062 A	28/02/02
				WO	0216341 A	28/02/02
				ZA	200106683 A	05/08/02

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

06/09/03

International application No.
PCT/DK 03/00537

Patent document cited in search report			Publication date	Patent family member(s)		Publication date
WO	0166536	A1	13/09/01	AU	3759101 A	17/09/01
				BR	0109048 A	03/06/03
				CA	2401861 A	13/09/01
				CN	1427834 T	02/07/03
				EP	1268461 A	02/01/03
				GB	0005477 D	00/00/00
				NO	20024241 A	07/11/02
WO	03051861	A1	26/06/03	NONE		
WO	03000672	A1	03/01/03	NONE		
WO	03006449	A1	23/01/03	NONE		

From the
INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINING AUTHORITY

PCT

113

To:

H. LUNDBECK AS
Patent Department
9, Otteliavej
DK-2500 COPENHAGEN-Valby
DANEMARKNOTIFICATION OF TRANSMITTAL OF
THE INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT

(PCT Rule 71.1)

Date of mailing
(day/month/year)

20.10.2004

Applicant's or agent's file reference
418 WO

IMPORTANT NOTIFICATION

International application No.
PCT/DK 03/00537International filing date (day/month/year)
12.08.2003Priority date (day/month/year)
12.08.2002Applicant
H. LUNDBECK AS et al.

1. The applicant is hereby notified that this International Preliminary Examining Authority transmits herewith the international preliminary examination report and its annexes, if any, established on the international application.
2. A copy of the report and its annexes, if any, is being transmitted to the International Bureau for communication to all the elected Offices.
3. Where required by any of the elected Offices, the International Bureau will prepare an English translation of the report (but not of any annexes) and will transmit such translation to those Offices.
4. REMINDER

The applicant must enter the national phase before each elected Office by performing certain acts (filing translations and paying national fees) within 30 months from the priority date (or later in some Offices) (Article 39(1)) (see also the reminder sent by the International Bureau with Form PCT/IB/301).

Where a translation of the International application must be furnished to an elected Office, that translation must contain a translation of any annexes to the international preliminary examination report. It is the applicant's responsibility to prepare and furnish such translation directly to each elected Office concerned.

For further details on the applicable time limits and requirements of the elected Offices, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The applicant's attention is drawn to Article 33(5), which provides that the criteria of novelty, inventive step and industrial applicability described in Article 33(2) to (4) merely serve the purposes of international preliminary examination and that "any Contracting State may apply additional or different criteria for the purposes of deciding whether, in that State, the claimed inventions is patentable or not" (see also Article 27(5)). Such additional criteria may relate, for example, to exemptions from patentability, requirements for enabling disclosure, clarity and support for the claims.

Name and mailing address of the international
preliminary examining authority:European Patent Office
D-80288 Munich
Tel. +49 89 2399 - 0 Tlx 523656 epmu d
Fax: +49 89 2399 - 4465

Authorized Officer

Roche, S

Tel. +49 89 2399-8031



PCT

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT (PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference 418 WO		FOR FURTHER ACTION See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/PEAA16)	
International application No. PCT/DK 03/00537	International filing date (day/month/year) 12.08.2003	Priority date (day/month/year) 12.08.2002	
International Patent Classification (IPC) or both national classification and IPC C07B57/00			
Applicant H. LUNDBECK AS et al.			
1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36. 2. This REPORT consists of a total of 5 sheets, including this cover sheet. ☐ This report is also accompanied by ANNEXES, i.e. sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT). These annexes consist of a total of sheets.			
3. This report contains indications relating to the following items: - I ☒ Basis of the opinion - II ☐ Priority - III ☐ Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability - IV ☐ Lack of unity of invention - V ☒ Reasoned statement under Rule 86.2(a)(II) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement - VI ☐ Certain documents cited - VII ☐ Certain defects in the international application - VIII ☐ Certain observations on the international application			
Date of submission of the demand 04.03.2004		Date of completion of this report 20.10.2004	
Name and mailing address of the international preliminary examining authority:  European Patent Office D-80298 Munich Tel. +49 89 23699 - 0 Tx: 523656 apmu d Fax: +49 89 23699 - 4465		Authorized Officer Brahmaier, W Telephone No. +49 89 2369-8327 	

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**

International application No. **PCT/DK 03/00537**

115

I. Basis of the report

1. With regard to the elements of the international application (*Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rules 70.16 and 70.17)*):

Description, Pages

1-77 as published

Claims, Numbers

1-98 as published

2. With regard to the language, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language: , which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of the international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any nucleotide and/or amino acid sequence disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages:
- ☐ the claims, Nos.:
- ☐ the drawings, sheets:

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed (Rule 70.2(c)).

(Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.)

6. Additional observations, if necessary:

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT**International application No. **PCT/DK 03/00537****V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability;
citations and explanations supporting such statement****1. Statement**

Novelty (N)	Yes: Claims	1-98
	No: Claims	
Inventive step (IS)	Yes: Claims	1-68, 84-98
	No: Claims	69-83
Industrial applicability (IA)	Yes: Claims	1-98
	No: Claims	

2. Citations and explanations**see separate sheet**

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, Inventive step or Industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

D1 : WO 00/12044

D2 : EP-A 0 347 066

The present invention refers to a method for making (es)citalopram via optically active intermediates of general formulae (II) and (IV) which are made available by selective enzymatic acylation and deacylation of the racemates according to claims 1 to 98.

novelty

The subject-matter according to claims 1 to 98 is novel pursuant to art. 33(2) PCT.

None of the documents of the available prior art describes the present method for making (es)citalopram via the optically active intermediates of formulae (II) and (IV) which are made available by selective enzymatic (de)acylation of the racemates according to claims 1-68 and 84-98 as well as the novel intermediates of formula (IV)

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/DK 03/00537

Re Item V

Reasoned statement with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

D1 : WO 00/12044

D2 : EP-A 0 347 066

The present invention refers to a method for making (es)citalopram via optically active intermediates of general formulae (II) and (IV) which are made available by selective enzymatic acylation and deacylation of the racemates according to claims 1 to 98.

novelty

The subject-matter according to claims 1 to 98 is novel pursuant to art. 33(2) PCT.

None of the documents of the available prior art describes the present method for making (es)citalopram via the optically active intermediates of formulae (II) and (IV) which are made available by selective enzymatic (de)acylation of the racemates according to claims 1-68 and 84-98 as well as the novel intermediates of formula (IV) according to claims 69-83. Novelty is therefore given.

inventive step

The subject-matter according to claims 69 to 83 is considered not to be based on an inventive step pursuant to art. 33(3) PCT.

Intermediates must themselves be based on an inventive step. Whether or not this condition is fulfilled has to be decided by taking the following into consideration.

The R- and S- enantiomers of general formula (IV) according to independent claim 69 are novel intermediates for making (es)citalopram which is a well known anti-depressant drug. These intermediates however are considered not to be based on an inventive step in view of the present intermediate state of the art. The R- and S- enantiomers of general formula (II) which are known intermediates for making (es)citalopram (see eg D1, page 6 and D2, page 4) are regarded as equivalents to the claimed acylated derivatives of general formula (IV) which can analogously be used to be cyclised to the above known product.

The present intermediates (IV) are thus thought to be derivable from the prior art in an obvious manner and can not be regarded as being inventive.

The subject-matter according to claim 69 as well as of dependent claims 70 to 83 is considered not to be inventive (art. 33(3) PCT).

**INTERNATIONAL PRELIMINARY
EXAMINATION REPORT - SEPARATE SHEET**

International application No. PCT/DK 03/00537

119

further remarks:

- a. Contrary to clarity (art. 6 PCT), claims 84 to 91 are not dependent on independent process claim 1.
- b. Contrary to Rule 5.1(a)(ii) PCT, the relevant background art disclosed in D1 is not mentioned in the description, nor is this document identified therein.
- c. clerical corrections: in claim 10, first line the term "wherein and" is not deleted; in claim 19, line 20 the abbreviation "pfp" is not defined by its proper name (see page 47); in claim 23, line 5, one "wherein" is not deleted; in claim 25, line 13, it does not read "suitably"; in claim 26, line 16 the term "is" is not deleted; in claim 30, second line, it does not read "ethyl or" and in claims 85 and 89 it does not read "derivative".

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION) - printed on 12.06.2003 11:49:24 AM

0	For receiving Office use only	
0-1	International Application No.	
0-2	International Filing Date	
0-3	Name of receiving Office and "PCT International Application"	
0-4	Form - PCT/ROH101 PCT Request	
0-4-1	Prepared using	PCT-EASY Version 2.92 (updated 01.07.2003)
0-5	Petition The undersigned requests that the present international application be processed according to the Patent Cooperation Treaty	
0-6	Receiving Office (specified by the applicant)	Danish Patent and Trademark Office (RO/DK)
0-7	Applicant's or agent's file reference	418 WO
I	Title of invention	METHOD FOR THE SEPARATION OF INTERMEDIATES WHICH MAY BE USED FOR THE PREPARATION OF ESCITALOPRAM
II	Applicant	
II-1	This person is:	applicant only
II-2	Applicant for	all designated States except US
II-4	Name	H. LUNDBECK A/S
II-5	Address:	Ottiliavej 9 DK-2500 Valby-Copenhagen Denmark DK-2500 Copenhagen Denmark
II-6	State of nationality	DK
II-7	State of residence	DK
II-8	Telephone No.	+45 36 30 13 11
II-9	Facsimile No.	+45 36 43 83 01
III-1	Applicant and/or inventor	
III-1-1	This person is:	applicant and inventor
III-1-2	Applicant for	US only
III-1-4	Name (LAST, First)	TAOKA, Naoki
III-1-5	Address:	1-1-1210, Dousyoudai 1-chome, Suma-ku, Kobe, Hyogo 654-0122 Japan Kobe, Hyogo 654-0122 Japan
III-1-6	State of nationality	JP
III-1-7	State of residence	JP

III-2	Applicant and/or Inventor	
III-2-1	This person is:	applicant and inventor
III-2-2	Applicant for	US only
III-2-4	Name (LAST, First)	KATO, Takahisa
III-2-5	Address:	51-2-205, Kokubo Akashi, Hyogo 673-0005 Japan Akashi, Hyogo 673-0005 Japan
III-2-6	State of nationality	JP
III-2-7	State of residence	JP
III-3	Applicant and/or Inventor	
III-3-1	This person is:	applicant and inventor
III-3-2	Applicant for	US only
III-3-4	Name (LAST, First)	YAMAMOTO, Shogo
III-3-5	Address:	Sanseiso, 31-17, Shiroyacho 6-chome, Tarumi-ku, Kobe, Hyogo 655-0872, Japan Kobe, Hyogo 655-0872 Japan
III-3-6	State of nationality	JP
III-3-7	State of residence	JP
III-4	Applicant and/or Inventor	
III-4-1	This person is:	applicant and inventor
III-4-2	Applicant for	US only
III-4-4	Name (LAST, First)	YOSHIDA, Takashi
III-4-5	Address:	Sanseiso, 31-17, Shiroyacho 6-chome, Tarumi-ku, Kobe Hyogo 655-0872, Japan Kobe, Hyogo 655-0872 Japan
III-4-6	State of nationality	JP
III-4-7	State of residence	JP
III-5	Applicant and/or Inventor	
III-5-1	This person is:	applicant and inventor
III-5-2	Applicant for	US only
III-5-4	Name (LAST, First)	TAKEDA, Toshihiro
III-5-5	Address:	11-7, Ihozakiminami, Takasago, Hyogo 676-0078 Japan Takasago, Hyogo 676-0078 Japan
III-5-6	State of nationality	JP
III-5-7	State of residence	JP

III-6	Applicant and/or inventor	
III-6-1	This person is:	applicant and inventor
III-6-2	Applicant for	US only
III-6-4	Name (LAST, First)	UEDA, Yasuyoshi
III-6-5	Address:	140-15, Waku, Aboshi-ku, Himeji, Hyogo 671-1227 Japan Himeji, Hyogo 671-1227 Japan
III-6-6	State of nationality	JP
III-6-7	State of residence	JP
III-7	Applicant and/or inventor	
III-7-1	This person is:	applicant and inventor
III-7-2	Applicant for	US only
III-7-4	Name (LAST, First)	PETERSEN, Hans
III-7-5	Address:	Guldagervej 11 DK-2720 Vanløse Denmark DK-2720 Vanløse Denmark
III-7-6	State of nationality	DK
III-7-7	State of residence	DK
III-8	Applicant and/or inventor	
III-8-1	This person is:	applicant and inventor
III-8-2	Applicant for	US only
III-8-4	Name (LAST, First)	DANCER, Robert
III-8-5	Address:	Sønderkær 53 DK-2650 Hvidovre Denmark DK-2650 Hvidovre Denmark
III-8-6	State of nationality	AU
III-8-7	State of residence	DK
III-9	Applicant and/or inventor	
III-9-1	This person is:	applicant and inventor
III-9-2	Applicant for	US only
III-9-4	Name (LAST, First)	ARMADIAN, Haleh
III-9-5	Address:	Digeparken 12 DK-2680 Solrød Strand Denmark DK-2680 Solrød Strand Denmark
III-9-6	State of nationality	DK
III-9-7	State of residence	DK

III-10	Applicant and/or inventor	
III-10-1	This person is:	applicant and inventor
III-10-2	Applicant for	US only
III-10-4	Name (LAST, First)	LYNGSØ, Lars, Ole
III-10-5	Address:	Aldershvilevej 121A, st.th. DK-2880 Bagsværd Denmark DK-2880 Bagsværd Denmark
III-10-6	State of nationality	DK
III-10-7	State of residence	DK
V	Designation of States	
V-1	Regional Patent (other kinds of protection or treatment, if any, are specified between parentheses after the designation(s) concerned)	AP: GH GM KE LS MW MZ SD SL SZ TZ UG ZM ZW and any other State which is a Contracting State of the Harare Protocol and of the PCT EA: AM AZ BY KG KZ MD RU TJ TM and any other State which is a Contracting State of the Eurasian Patent Convention and of the PCT EP: AT BE BG CH&LI CY CZ DE DK EE ES FI FR GB GR HU IE IT LU MC NL PT RO SE SI SK TR and any other State which is a Contracting State of the European Patent Convention and of the PCT OA: BF BJ CF CG CI CM GA GN GQ GW ML MR NE SN TD TG and any other State which is a member State of OAPI and a Contracting State of the PCT
V-2	National Patent (other kinds of protection or treatment, if any, are specified between parentheses after the designation(s) concerned)	AE AG AL AM AT (patent and utility model) AU AZ BA BB BG BR BY BZ CA CH&LI CN CO CR CU CZ (patent and utility model) DE (patent and utility model) DK (patent and utility model) DM DZ EC EE (patent and utility model) ES FI (patent and utility model) GB GD GE GH GM HR HU ID IL IN IS JP KE KG KP KR KZ LC LK LR LS LT LU LV MA MD MG MK MN MW MX MZ NI NO NZ OM PG PH PL PT RO RU SC SD SE SG SK (patent and utility model) SL SY TJ TM TN TR TT TZ UA UG US UZ VC VN YU ZA ZM ZW

124

V-5	Precautionary Designation Statement		
	In addition to the designations made under items V-1, V-2 and V-3, the applicant also makes under Rule 4.8(b) all designations which would be permitted under the PCT except any designation(s) of the State(s) indicated under item V-6 below. The applicant declares that those additional designations are subject to confirmation and that any designation which is not confirmed before the expiration of 15 months from the priority date is to be regarded as withdrawn by the applicant at the expiration of that time limit.		
V-6	Exclusion(s) from precautionary designations	NONE	
VI-1	Priority claim of earlier national application		
VI-1-1	Filing date	12 August 2002 (12.08.2002)	
VI-1-2	Number	PA200201201	
VI-1-3	Country	DK	
VI-2	Priority claim of earlier national application		
VI-2-1	Filing date	12 August 2002 (12.08.2002)	
VI-2-2	Number	60/403,088	
VI-2-3	Country	US	
VII-1	International Searching Authority Chosen	Swedish Patent Office (ISA/SE)	
VIII	Declarations	Number of declarations	
VIII-1	Declaration as to the identity of the inventor	-	
VIII-2	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to apply for and be granted a patent	-	
VIII-3	Declaration as to the applicant's entitlement, as at the international filing date, to claim the priority of the earlier application	-	
VIII-4	Declaration of inventorship (only for the purposes of the designation of the United States of America)	-	
VIII-5	Declaration as to non-prejudicial disclosures or exceptions to lack of novelty	-	
IX	Check list	number of sheets	electronic file(s) attached
IX-1	Request (including declaration sheets)	7	-
IX-2	Description	77	-
IX-3	Claims	22	-
IX-4	Abstract	1	EZABST00.TXT
IX-5	Drawings	0	-
IX-7	TOTAL	107	

PCT REQUEST

Original (for SUBMISSION) - printed on 12.08.2003 11:49:24 AM

	Accompanying items	paper document(s) attached	electronic file(s) attached
IX-8	Fee calculation sheet	✓	-
IX-13	Priority document(s)	Item(s) VI-1	-
IX-17	PCT-EASY diskette	-	Diskette
IX-19	Figure of the drawings which should accompany the abstract		
IX-20	Language of filing of the International application	English	
X-1	Signature of applicant, agent or common representative		
X-1-1	Name	H. LUNDBECK A/S	
X-1-2	Name of signatory	Laila Nielsen	
X-1-3	Capacity	Patent Counsel	
X-2	Signature of applicant, agent or common representative		
X-2-1	Name (LAST, First)	TAOKA, Naoki	
X-3	Signature of applicant, agent or common representative		
X-3-1	Name (LAST, First)	KATO, Takahisa	
X-4	Signature of applicant, agent or common representative		
X-4-1	Name (LAST, First)	YAMAMOTO, Shogo	
X-5	Signature of applicant, agent or common representative		
X-5-1	Name (LAST, First)	YOSHIDA, Takashi	
X-6	Signature of applicant, agent or common representative		
X-6-1	Name (LAST, First)	TAKEDA, Toshihiro	
X-7	Signature of applicant, agent or common representative		
X-7-1	Name (LAST, First)	UEDA, Yasuyoshi	
X-8	Signature of applicant, agent or common representative		
X-8-1	Name (LAST, First)	PETERSEN, Hans	
X-9	Signature of applicant, agent or common representative		
X-9-1	Name (LAST, First)	DANCER, Robert	

PCT REQUEST

7/7

126

418 WO

Original (for SUBMISSION) - printed on 12.08.2003 11:49:24 AM

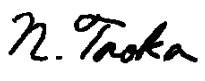
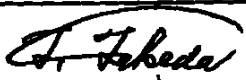
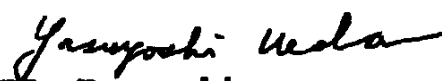
X-10	Signature of applicant, agent or common representative	
X-10-1	Name (LAST, First)	AHMADIAN, Haleh
X-11	Signature of applicant, agent or common representative	
X-11-1	Name (LAST, First)	LYNGSØ, Lars, Ole

FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY

10-1	Date of actual receipt of the purported international application	
10-2	Drawings:	
10-2-1	Received	
10-2-2	Not received	
10-3	Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application	
10-4	Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2)	
10-5	International Searching Authority	ISA/SE
10-6	Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

FOR INTERNATIONAL BUREAU USE ONLY

11-1	Date of receipt of the record copy by the International Bureau	
------	--	--

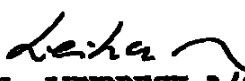
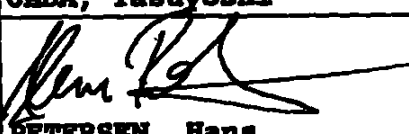
	Accompanying items	paper document(s) attached	electronic file(s) attached
IX-8	Fee calculation sheet	✓	-
IX-13	Priority document(s)	Item(s) VI-1	-
IX-17	PCT-EASY diskette	-	Diskette
IX-19	Figure of the drawings which should accompany the abstract		
IX-20	Language of filing of the international application	English	
X-1	Signature of applicant, agent or common representative		
X-1-1	Name	H. LUNDBECK A/S	
X-1-2	Name of signatory	Leila Nielsen	
X-1-3	Capacity	Patent Counsel	
X-2	Signature of applicant, agent or common representative		
X-2-1	Name (LAST, First)	TAOKA, Naoaki	
X-3	Signature of applicant, agent or common representative		
X-3-1	Name (LAST, First)	KATO, Takahisa	
X-4	Signature of applicant, agent or common representative		
X-4-1	Name (LAST, First)	YAMAMOTO, Shogo	
X-5	Signature of applicant, agent or common representative		
X-5-1	Name (LAST, First)	YOSHIDA, Takashi	
X-6	Signature of applicant, agent or common representative		
X-6-1	Name (LAST, First)	TAKEDA, Toshihiro	
X-7	Signature of applicant, agent or common representative		
X-7-1	Name (LAST, First)	UEDA, Yasuyoshi	
X-8	Signature of applicant, agent or common representative		
X-8-1	Name (LAST, First)	PETERSEN, Hans	
X-9	Signature of applicant, agent or common representative		
X-9-1	Name (LAST, First)	DANCER, Robert	

PCT REQUEST

6/7

123
418 WO

Original (for SUBMISSION) - printed on 12.06.2003 11:49:24 AM

	Accompanying items	paper document(s) attached	electronic file(s) attached
IX-8	Fee calculation sheet	✓	-
IX-13	Priority document(s)	Item(s) VI-1	-
IX-17	PCT-EASY diskette	-	Diskette
IX-19	Figure of the drawings which should accompany the abstract		
IX-20	Language of filing of the international application	English	
X-1	Signature of applicant, agent or common representative		
X-1-1	Name	H. LUNDBECK A/S	
X-1-2	Name of signatory	Leila Nielsen	
X-1-3	Capacity	Patent Counsel	
X-2	Signature of applicant, agent or common representative		
X-2-1	Name (LAST, First)	TAOKA, Naoaki	
X-3	Signature of applicant, agent or common representative		
X-3-1	Name (LAST, First)	KATO, Takahisa	
X-4	Signature of applicant, agent or common representative		
X-4-1	Name (LAST, First)	YAMAMOTO, Shogo	
X-5	Signature of applicant, agent or common representative		
X-5-1	Name (LAST, First)	YOSHIDA, Takashi	
X-6	Signature of applicant, agent or common representative		
X-6-1	Name (LAST, First)	TAKEDA, Toshihiro	
X-7	Signature of applicant, agent or common representative		
X-7-1	Name (LAST, First)	UKEDA, Yasuyoshi	
X-8	Signature of applicant, agent or common representative		
X-8-1	Name (LAST, First)	PETERSEN, Hans	
X-9	Signature of applicant, agent or common representative		
X-9-1	Name (LAST, First)	DANCER, Robert	

PCT REQUEST

7/7

Original (for SUBMISSION) - printed on 12.08.2003 11:49:24 AM

418 WO

129

X-10	Signature of applicant, agent or common representative	<i>Haleh Ahmadian</i>
X-10-1	Name (LAST, First)	AHMADIAN, Haleh
X-11	Signature of applicant, agent or common representative	<i>Lars O. Lingsø</i>
X-11-1	Name (LAST, First)	LYNGSØ, Lars, Ole

FOR RECEIVING OFFICE USE ONLY

10-1	Date of actual receipt of the purported international application	
10-2	Drawings:	
10-2-1	Received	
10-2-2	Not received	
10-3	Corrected date of actual receipt due to later but timely received papers or drawings completing the purported international application	
10-4	Date of timely receipt of the required corrections under PCT Article 11(2)	
10-5	International Searching Authority	ISA/SE
10-6	Transmittal of search copy delayed until search fee is paid	

FOR INTERNATIONAL BUREAU USE ONLY

11-1	Date of receipt of the record copy by the International Bureau	
------	--	--

PATENT COOPERATION TREATY

H

129

From the INTERNATIONAL BUREAU

PCT

INFORMATION CONCERNING ELECTED
OFFICES NOTIFIED OF THEIR ELECTION

(PCT Rule 61.3)

To:

H. LUNDBECK A/S
Ottiliavej 9
DK-2500 Valby-Copenhagen
Denmark

Date of mailing (day/month/year) 14 April 2004 (14.04.2004)		IMPORTANT INFORMATION	
Applicant's or agent's file reference 418 WO			
International application No. PCT/DK2003/000537	International filing date (day/month/year) 12 August 2003 (12.08.2003)	Priority date (day/month/year) 12 August 2002 (12.08.2002)	
Applicant H. LUNDBECK A/S et al			

1. The applicant is hereby informed that the International Bureau has, according to Article 31(7), notified each of the following Offices of its election:

EP : AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IT, LU, MC, NL, PT, RO, SE,
SI, SK, TR
National : BG, CA, CN, DE, GB, IL, JP, KP, KR, MN, NO, PL, RO, RU, SK, US

2. The following Offices have waived the requirement for the notification of their election; the notification will be sent to them by the International Bureau only upon their request:

AP : GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW
EA : AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM
OA : BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GO, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG
National : AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BR, BY, BZ, CH, CO, CR, CU, CZ, DK, DM, DZ, EC,
EE, ES, FI, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IN, IS, KE, KG, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD,
MG, MK, MW, MX, MZ, NI, NZ, OM, PG, PH, PT, SC, SD, SE, SG, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA,
UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

3. The applicant is reminded that he must enter the "national phase" before the expiration of 30 months from the priority date before each of the Offices listed above. This must be done by paying the national fee(s) and furnishing, if prescribed, a translation of the international application (Article 38(1)(a)), as well as, where applicable, by furnishing a translation of any annexes of the international preliminary examination report (Article 38(3)(b) and Rule 74.1).

Some offices have fixed time limits expiring later than the above-mentioned time limit. For detailed information about the applicable time limits and the acts to be performed upon entry into the national phase before a particular Office, see Volume II of the PCT Applicant's Guide.

The entry into the European regional phase is postponed until 31 months from the priority date for all States designated for the purposes of obtaining a European patent.

The International Bureau of WIPO 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland	Authorized officer: ALI SOLEIMAN
Facsimile No. (41-22) 338.71.30	Telephone No. (41-22) 338 8564

PCT

NOTICE INFORMING THE APPLICANT OF THE
COMMUNICATION OF THE INTERNATIONAL
APPLICATION TO THE DESIGNATED OFFICES

(PCT Rule 47.1(c), first sentence)

To:

H. LUNDBECK A/S
Ottolavej 9
DK-2500 Valby-Copenhagen
DANEMARKDate of mailing (day/month/year)
19 February 2004 (19.02.2004)Applicant's or agent's file reference
418 WO

IMPORTANT NOTICE

International application No.
PCT/DK2003/000537International filing date (day/month/year)
12 August 2003 (12.08.2003)Priority date (day/month/year)
12 August 2002 (12.08.2002)

Applicant

H. LUNDBECK A/S et al

1. Notice is hereby given that the International Bureau has communicated, as provided in Article 20, the international application to the following designated Offices on the date indicated above as the date of mailing of this notice:

AU, AZ, BY, CH, CN, CO, DZ, EP, HU, JP, KG, KP, KR, MD, MK, MZ, RU, TM, US

In accordance with Rule 47.1(c), third sentence, those Offices will accept the present notice as conclusive evidence that the communication of the international application has duly taken place on the date of mailing indicated above and no copy of the international application is required to be furnished by the applicant to the designated Office(s).

2. The following designated Offices have waived the requirement for such a communication at this time:

AE, AG, AL, AM, AP, AT, BA, BB, BG, BR, BZ, CA, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, EA, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, ID, IL, IN, IS, KE, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MG, MN, MW, MX, NI, NO, NZ, OA, OM, PG, PH, PL, PT, RO, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW

The communication will be made to those Offices only upon their request. Furthermore, those Offices do not require the applicant to furnish a copy of the international application (Rule 49.1(a-bis)).

3. Enclosed with this notice is a copy of the international application as published by the International Bureau on 19 February 2004 (19.02.2004) under No. WO 2004/014821

4. **TIME LIMITS** for filing a demand for international preliminary examination and for entry into the national phase

The applicable time limit for entering the national phase will, subject to what is said in the following paragraph, be 30 MONTHS from the priority date, not only in respect of any elected Office if a demand for international preliminary examination is filed before the expiration of 19 months from the priority date, but also in respect of any designated Office, in the absence of filing of such demand, where Article 22(1) as modified with effect from 1 April 2002 applies in respect of that designated Office. For further details, see *PCT Gazette* No. 44/2001 of 1 November 2001, pages 19926, 19932 and 19934, as well as the *PCT Newsletter*, October and November 2001 and February 2002 issues.

In practice, time limits other than the 30-month time limit will continue to apply, for various periods of time, in respect of certain designated or elected Offices. For regular updates on the applicable time limits (20, 21, 30 or 31 months, or other time limit), Office by Office, refer to the *PCT Gazette*, the *PCT Newsletter* and the *PCT Applicant's Guide*, Volume II, National Chapters, all available from WIPO's Internet site, at <http://www.wipo.int/pct/en/index.html>.

For filing a demand for international preliminary examination, see the *PCT Applicant's Guide*, Volume I/A, Chapter IX. Only an applicant who is a national or resident of a PCT Contracting State which is bound by Chapter II has the right to file a demand for international preliminary examination (at present, all PCT Contracting States are bound by Chapter II).

It is the applicant's sole responsibility to monitor all these time limits.

The International Bureau of WIPO
34, chemin des Colombettes
1211 Geneva 20, Switzerland

Authorized officer

Gijsbertus Beijer - Carlos Roy

Facsimile No.(41-22) 740.14.35

Telephone No.(41-22) 338.91.11

rm PCT/IB/308 (April 2002)

132

TRATADO DE C OOPERACIÓN DE PATENTES
PCT
INFORME DE EXAMEN PRELIMINAR INTERNACIONAL
(Artículo 36 y Regla 70 del PCT)

Referencia del expediente del agente o solicitante 418 WO	PARA ACTUACIONES ADICIONALES Ver notificación de Transmisión del Reporte de Examen Preliminar (Formato PCT/IPEA416)	
Solicitud Internacional No. PCT/DK03/00537	Fecha de presentación internacional (día/mes/año) 12/08/2003	Fecha de prioridad (día/mes/año) 12/08/2002
Clasificación Internacional de Patentes (IPC) o clasificación nacional e IPC C07B 57/00		
Solicitante H. LUNDBECK A/S et al.		

1. Este informe de examen preliminar internacional ha sido preparado por esta Administración encargada del Examen Preliminar Internacional y se envía al solicitante en concordancia con el artículo 36.

2. Este INFORME consta de una total de 5 hojas, incluyendo la portada

☐ Este informe también se acompaña de ANEXOS, esto es documentos de la descripción, reivindicaciones y/o dibujos que han sido corregidos y que son la base de este Informe y/o documentos que contienen rectificaciones realizadas ante esta Administración (Ver Regla 70.16 y Sección 607 de las Instrucciones Administrativas según el PCT)

Estos anexos constan de un total de 0 hojas.

3. Este informe contiene indicaciones relativas a los siguientes aspectos:

I ☒ Fundamentos del Informe

II ☐ Prioridad

III ☐ No se establece concepto relativo a la novedad, nivel inventivo y aplicación industrial

IV ☐ Carencia de unidad de la invención

V ☒ Declaración razonada según el artículo 35(2), en relación con la novedad, nivel inventivo o aplicación industrial; citaciones y explicaciones que soportan dicha declaración

VI ☐ Ciertos documentos citados

VII ☐ Ciertos defectos de la solicitud internacional

VIII ☐ Ciertas observaciones respecto a la solicitud internacional

Fecha de presentación de la demanda 04/03/2004	Fecha de terminación de este reporte 20/10/2004
Nombre y dirección de correo de la autoridad encargada del examen preliminar Oficina de Patentes Europea D-80298 Munich Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4485	Funcionario Autorizado Breimaier, w Teléfono No. +49 89 2399-8327

Formato PCT/IPEA/409 (portada) (enero 2004)

133

I. Base del Informe

1. Respecto a los elementos de la solicitud internacional (*Las hojas de reemplazo que han sido entregadas a la Oficina receptora en respuesta a la invitación bajo el Artículo 14 se refieren en este informe como "originalmente presentadas" y no se anexan a este informe ya que ellas no contienen modificaciones (Regla 70.16 y 70.17):*

☒ La descripción:
páginas 1 - 77, como se publicó

☒ Las reivindicaciones:
números 1 - 98, como se publicó

2. Respecto al lenguaje, todos los elementos marcados anteriormente estuvieron disponibles o fueron enviados a la Administración en el lenguaje en que se presentó la solicitud internacional, a menos que se indique otra cosa en este punto.

Estos elementos estuvieron disponibles o fueron enviados a esta Administración en el siguiente lenguaje _____ el cual es:

- ☐ el lenguaje de la traducción enviada para propósitos de la búsqueda internacional (bajo Regla 23.1 (b)).
☐ el lenguaje de la publicación de la solicitud internacional (bajo Regla 48.3(b)).
☐ el lenguaje de la traducción entregada con propósitos del examen preliminar internacional (bajo Regla 55.2 y/o 55.3).

3. Respecto a cualquier secuencia de nucleótido y/o amino ácidos divulgada en la solicitud internacional, el examen preliminar internacional se llevó a cabo con base en el listado de secuencias:

- ☐ contenido en la solicitud internacional en forma escrita
☐ presentado junto con la solicitud internacional en forma legible por computador
☐ entregado posteriormente a esta Administración en forma legible por computador
☐ La declaración de que el listado de secuencias posteriormente entregado no va más allá de lo divulgado en la solicitud internacional originalmente presentada, ha sido entregada.
☐ La declaración de que la información grabada en la forma legible por computador es idéntica al listado de secuencias escrito que se ha entregado.

4. Las modificaciones han dado como resultado la cancelación de:

- ☐ la descripción, páginas _____,
☐ las reivindicaciones, Nos. _____,
☐ los dibujos, página _____.

5. ☐ Este reporte ha sido establecido como si (parte de) las modificaciones no se hubieran realizado, ya que éstas han sido consideradas como una ampliación de lo inicialmente divulgado como se indica en la Casilla Suplementaria (Regla 70.2(c)).

(Cualquier hoja de reemplazo que contenga dichas modificaciones deberá ser referida bajo el punto 1 y anexada a este informe).

6. Observaciones adicionales, en caso de ser necesario:

134

V. Declaración motivada según el Artículo 62(2)(II) en cuanto a la novedad, el nivel inventivo y la aplicación industrial; citas y explicaciones que soportan dicha declaración

1. Declaración

Novedad (N)	Reivindicaciones	1 – 98	SI
	Reivindicaciones		NO
Nivel inventivo (NI)	Reivindicaciones	1 – 68, 84-98	SI
	Reivindicaciones	69-83	NO
Aplicación Industrial (AI)	Reivindicaciones	1 – 98	SI
	Reivindicaciones		NO

2. Citas y explicaciones

Ver hoja separada

HOJA SEPARADA

Re Punto V

Declaración motivada en cuanto a la novedad, el nivel inventivo y la aplicación Industrial; citas y explicaciones que soportan dicha declaración

D1: WO 00/12044

D2: EP-A 0 347 066

La presente invención se refiere a un método para preparar (es)citalopram mediante intermediarios activos óptimamente de la formula general (II) y (IV) los cuales se ponen a disposición mediante acilación encimática selectiva y deacilación de los racematos de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 98.

Novedad

La materia objeto de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 98 es novedosa de acuerdo con el artículo 33(2) del PCT.

Ninguno de los documentos del estado del arte a disposición describe el presente método para preparar (es)citalopram por medio de intermediarios óptimamente activos de la formula (II) y (VI) los cuales se ponen a disposición mediante (de)acilación encimática selectiva de los racematos de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 68 y 84 a 98, así como los intermediarios novedosos de formula (IV) de acuerdo con las reivindicaciones 69 a 83. Por lo tanto la novedad esta dada.

Nivel Inventivo

La materia objeto de acuerdo con las reivindicaciones 69 a 83 se considera como que no se basa en un nivel inventivo de acuerdo con el artículo 33(3) del PCT.

Los intermediarios tienen que basarse en un nivel inventivo por sí mismos. Si esta condición se cumple o no tiene que ser decidida por medio de tener lo siguiente en consideración:

Los enantiómeros R- y S- de la formula general (IV) de acuerdo con la reivindicación independiente 69 son intermediarios novedosos para la preparación de (es)citalopram el cual es una droga antidepresiva reconocida. Sin embargo estos intermediarios se consideran como que no se basan en un nivel inventivo en vista del presente estado del arte de intermediarios. Los enantiómeros R- y S- de la formula general (II) los cuales con intermediarios conocidos para la preparación de (es)citalopram (ver por ejemplo D1, página 6 y D2, página 4) son referidos como equivalentes de los derivados acilados

reivindicados de la formula general (IV) los cuales pueden ser utilizados análogamente para ser ciclados al producto conocido arriba.

Por lo tanto, se piensa que los presentes intermediarios (IV) son deducibles del estado del arte de manera obvia y no pueden ser referidos como que sean inventivos.

La materia objeto de acuerdo con la reivindicación 69 así como la de las reivindicaciones dependientes 70 a 83 es considerada como que no es inventiva (art. 33(3) del PCT).

Observaciones adicionales:

- a. Contrario a la claridad (art. 6 del PCT), las reivindicaciones 84 a 91 no son dependientes del proceso independiente de la reivindicación 1.
- b. Contrario a la regla 5.1(a)(ii) del PCT, el estado del arte relevante divulgado en el documento D1 no es mencionado en la descripción, tampoco se identifica este documento en la misma.
- c. Correcciones tipográficas: en la reivindicación 10, en el primer renglón la expresión "wherein and" no se ha eliminado; en la reivindicación 19, renglón 20, la abreviación "pfp" no esta definida por sus nombres correctos (ver pagina 47); en la reivindicación 23, renglón 5, uno de los "wherein" no se ha eliminado; en la reivindicación 25, renglón 13, no se lee "suitably"; en la reivindicación 26, renglón 16 la expresión "is" no se ha eliminado; en la reivindicación 30, segunda línea, no se lee "ethyl o" y en las reivindicaciones 85 y 89 no se lee "derivative".

Método para la Separación de Intermediarios que pueden ser Utilizados para la Preparación de Escitalopram

La presente invención se refiere a un método nuevo para la preparación de intermediarios ópticamente activos útiles para la preparación de escitalopram que involucra la aclación o desaclación enzimática selectiva.

Antecedentes de la invención

Citalopram es un fármaco antidepresivo bien conocido que ha estado en el mercado durante algunos años.

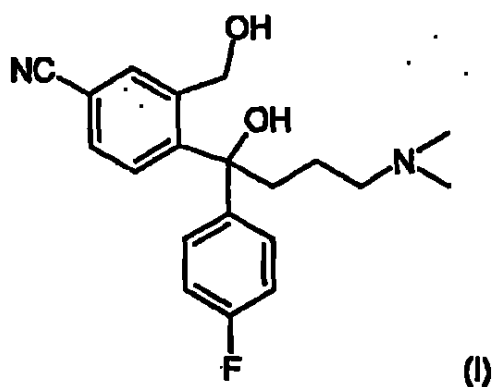
Es un inhibidor de recaptación de serotonina (5-hidroxitriptamina; 5-HT) que actúa en forma central, por lo que presenta actividades antidepresivas.

Citalopram se reveló por primera vez en el Documento DE 2.657.013 que corresponde a la patente Estadounidense No. 4.136.193. Esta publicación de patente bosqueja un proceso para la preparación de citalopram a partir del correspondiente 5-bromo-derivado mediante la reacción con cianuro cuproso en un solvente adecuado y mediante la alquilación de 5-bromo-ptalano.

La Patente Estadounidense No. 4.943.590 correspondiente a EP-B1-347 066 describe dos procesos para la preparación de escitalopram (enantiómero S de citalopram).

210.064
DPG

Ambos procesos utilizan el diol racémico que tiene la fórmula



como material de partida. De acuerdo con el primer proceso, el diol de la fórmula (I) se hace reaccionar con un derivado de ácido enantiómericamente puro, tal como cloruro de (+) o (-)- α -metoxi- α -trifluorometil-fenilacetilo para formar una mezcla de ésteres diastereómericos, que se separan mediante HPLC o cristalización fraccional, por lo que el éster con la correcta estereoquímica se convierte enantioselectivamente en escitalopram. De acuerdo con el segundo proceso, el diol de la fórmula (II) se separa en los enantiómeros mediante cristalización estereoselectiva con un ácido enantioméricamente puro tal como ácido (+)-di-*p*-toluoiltartárico, por lo que el enantiómero S del diol de la fórmula (A) se convierte enantioselectivamente en escitalopram.

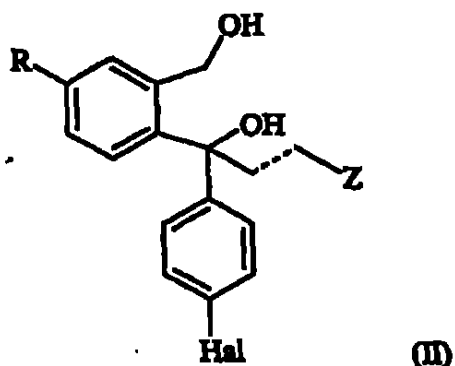
En la actualidad escitalopram ha sido desarrollado como un antidepresivo. Por lo tanto, existe la necesidad de un método mejorado para la preparación de escitalopram.

Se ha hallado que el enantiómero S del diol de la fórmula (I) anterior como también los derivados acilados del mismo puede prepararse mediante acilación enzimática selectiva del grupo hidroxilo primario en el diol racémico para obtener S-diol o un derivado acilado del mismo con elevada pureza óptica y además que

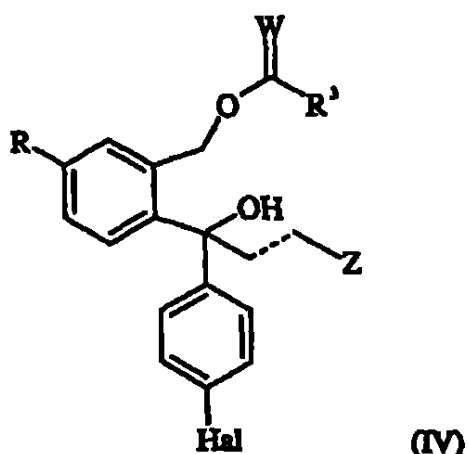
los enantiómeros obtenidos pueden separarse mediante una serie de funciones de aislamiento y purificación.

La invención

En consecuencia, la presente invención se refiere a un proceso nuevo para la preparación del enantiómero S o R de un diol que tiene la fórmula

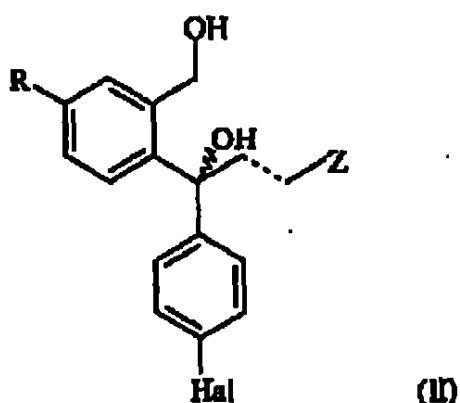


donde R es ciano o un grupo que puede convertirse a un grupo ciano, Z es un grupo $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R}'\text{R}'')$ donde R' y R'' son alquilo C_{1-8} , o R' y R'' están conectados entre si para formar una estructura cíclica incluyendo el átomo N al cual están unido, o Z es un grupo que puede convertirse a un grupo dimetilaminometilo, la línea punteada representa un enlace doble o simple y Hal es halógeno o una sal del mismo, y/o el enantiómero opuesto de un diol acilado que tiene la fórmula

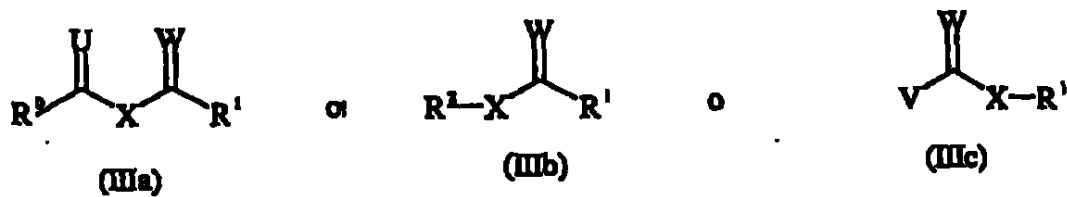


donde R, Z, la línea punteada y Hal son como se definieron anteriormente, W es O o S, y R^1 es $-Y-R^1$, donde R^1 es alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} o alquinilo C_{2-10} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} , di-(alquil C_{1-10})amino, arilo, arilo, ariltio y heteroarilo, o R^1 es arilo; en donde cualquiera de los grupos arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} y di-(alquil C_{1-10})amino e Y es un enlace, O, S o NH, o una sal del mismo, que comprende

- a) someter un compuesto racémico de fórmula



donde R, Z, la línea punteada y Hal son como se definieron anteriormente, para la acilación enzimática selectiva utilizando un agente acilante que tiene la fórmula



o un isocianato que tiene la fórmula $R^1-N=C=O$ o un isotiocianato que tiene la fórmula $R^1-N=C=S$;

donde X es O o S; W es O o S; U es O o S, V es halógeno y

R^0 es alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} o alquinilo C_{2-10} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} , di-(alquil C_{1-10})amino, arilo, ariloxi, ariltio y heteroarilo, o R^0 es

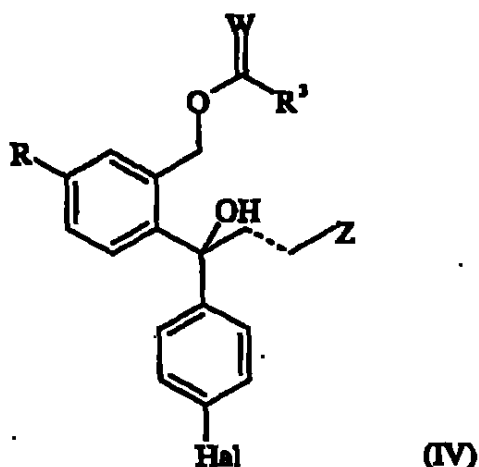
arilo, donde cualquiera de los grupos arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, alcoxi C₁₋₁₀, alquiltio C₁₋₁₀, hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₁₀ y di-(alquil C₁₋₁₀)amino;

R¹ es como se definió para R⁰:

R² es como se definió para R⁰, o R² es un grupo saliente apropiado;

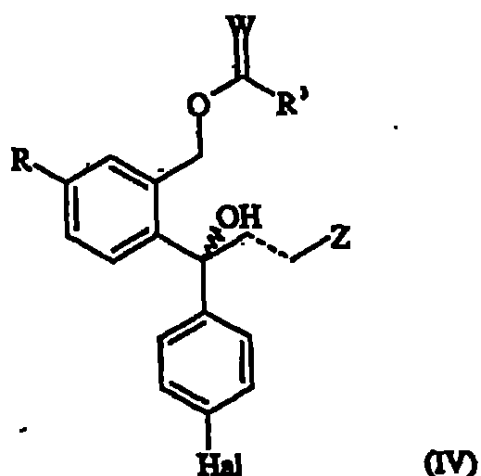
o R⁰ y R¹ juntos forman una cadena de 3 a 5 átomos de carbono;

siempre que W y U no sean S cuando X es S; para formar una mezcla del material de partida de la fórmula (II) en cualquier forma R o S y el enantiómero opuesto del diol acilado que tiene la fórmula

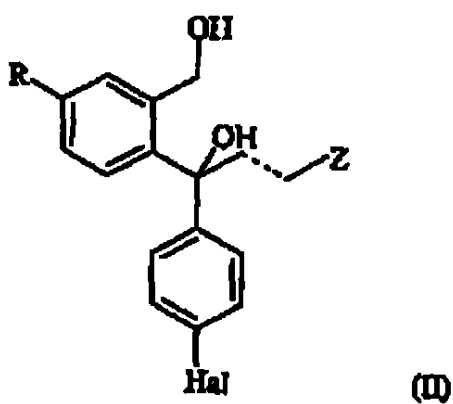


en donde R, W, Hal, R³, la línea punteada y Z son como se definieron anteriormente; o

b) someter un compuesto racémico de fórmula



en donde R, Z, W, Hal la línea punteada y R³ son como se definieron anteriormente, para desacilación enzimática selectiva para formar una mezcla de un compuesto desacilado de fórmula



en donde R, Hal, la línea punteada y Z son como se definieron anteriormente en cualquier forma R o S y el material de partida acilado de la fórmula (IV) en la forma del enantiómero opuesto;

opcionalmente seguido de, en cualquier orden, el aislamiento del

enantiómero S o R del compuesto de fórmula (II) y/o el enantiómero opuesto del compuesto de fórmula (IV) o una sal del mismo.

La invención además se refiere a los métodos para la separación de las mezclas de un enantiómero de fórmula (IV) a partir del enantiómero opuesto de fórmula (II) y a los enantiómeros R y S de los compuestos de fórmula (IV) anterior.

Finalmente, la invención se refiere a un método para la preparación de escitalopram y citalopram racémico a partir de los enantiómeros de un compuesto de fórmula (II) obtenido mediante la acilación enzimática selectiva o desacilación de acuerdo con la invención, o los enantiómeros del derivado de acilo ópticamente activo de fórmula (IV) obtenido mediante la acilación enzimática selectiva o desacilación de acuerdo con la invención.

Descripción Detallada de la Invención

Cuando se utiliza en conexión con los compuestos de fórmula (II), (IV) y (V), los términos "enantiómero", "enantiómero R", "enantiómero S", "forma R", "forma S", "R-diol" y "S-diol" se refiere a la orientación de los grupos alrededor del átomo de carbono al cual el grupo 4-Hal-fenilo está unido.

La presente invención se relaciona, de este modo, en una realización, con una acilación enzimática selectiva como la anterior y en otra realización a una desacilación enzimática selectiva como la anterior.

La acilación enzimática selectiva significa que la acilación enzimática es efectiva preferentemente para la conversión de uno de los enantiómeros de un compuesto de fórmula (II) preferentemente dejando el otro enantiómero del compuesto de fórmula (II) descubierto en la mezcla de reacción.

La desacilación enzimática selectiva significa que la desacilación enzimática es efectiva preferentemente para la conversión de uno de los enantiómeros de un compuesto de fórmula (IV), preferentemente, dejando el otro

enantiómero del compuesto de fórmula (IV) descubierto en la mezcla de reacción.

La acilación selectiva de acuerdo con la invención da por resultado, de este modo, una mezcla que contiene preferentemente el compuesto de fórmula (II) en la forma S y el compuesto de fórmula (IV) en la forma R, o puede dar por resultado una mezcla que contiene preferentemente el compuesto de fórmula (II) en la forma R, o puede resultar en una mezcla que contiene preferentemente el compuesto de fórmula (II) en la forma R y el compuesto de fórmula (IV) en la forma S.

De igual modo, la desacilación enzimática selectiva puede dar por resultado una mezcla que contiene preferentemente el compuesto de fórmula (IV) en la forma S y el compuesto de fórmula (II) en la forma R, o puede dar por resultado una mezcla que contiene preferentemente el compuesto de fórmula (IV) en la forma R y el compuesto de fórmula (II) en la forma S.

La mezcla de la composición obtenida después de la acilación o desacilación de acuerdo con la invención depende de la hidrolasa específica utilizada y las condiciones en las cuales se lleva a cabo la reacción. La característica de la acilación / desacilación enzimática de acuerdo con la invención es que una porción considerablemente mayor de un enantiómero que del otro se convierte. La pureza óptica del diol de la fórmula (II) y/o el compuesto acilado de la fórmula (IV) obtenida mediante el método de resolución óptica de la presente invención es usualmente al menos 90% ee, preferentemente al menos 95% ee, más preferentemente al menos 97% ee y más preferentemente al menos 98% ee. Sin embargo, son aceptables valores más bajos para la pureza óptica.

El material de partida para el método enzimático de la invención es un diol racémico de fórmula (II) o un derivado de acilo racémico de fórmula (IV).

En una realización preferida de la invención R es halógeno o ciano, ciano es el más preferido.

En una cuarta realización preferida de la invención Hal es flúor.

En otra realización de la invención, la línea punteada en la fórmula (II) y (IV) es un enlace simple.

En una realización Z es dimetilaminometilo o un grupo que puede convertirse a dimetilaminometilo. En una realización apropiada Z es dimetilaminometilo.

Más preferentemente, Hal es flúor, R es ciano, la línea punteada es un enlace simple y Z es dimetilaminometilo.

El agente acilante utilizado para la acilación enzimática de acuerdo con la invención puede ser uno de los compuestos de fórmula (IIIa), (IIIb), y (IIIc) adecuado.

En otra realización, el agente acilante utilizado de acuerdo con la invención es cualquiera de los compuestos de fórmula (IIIa) y (IIIb).

De acuerdo con otra realización de la invención, el agente acilante utilizado es un compuesto de fórmula (IIIa).

De acuerdo aún a otra realización de la invención, el agente acilante utilizado es un compuesto de fórmula (IIIb).

De acuerdo aún a otra realización de la invención, el agente acilante es un compuesto de fórmula (IIIc).

Cuando el agente acilante es un compuesto de fórmula (IIIa), U es O apropiado.

Cuando el agente acilante es cualquiera de los anteriores, W es O apropiado.

Cuando el agente acilante es cualquiera de los anteriores, X es O apropiado.

En forma apropiada, los sustituyentes R^0 , R^1 y R^2 en cualquiera de los agentes acilantes (IIIa), (IIIb) y (IIIc) definidos en cualquiera de las realizaciones anteriores, son los siguientes:

R^0 , R^1 y R^2 se seleccionan independientemente de alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} y alquinilo C_{2-6} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-6} , alquiltio C_{1-6} , hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-6} y di-(alquil C_{1-6})amino o R^2 es un grupo saliente apropiado, tal como succinimidilo, HOBt y pfp, o R^0 y R^1 juntos forman una cadena de 3-5 átomos de carbono, en forma más preferida R^0 , R^1 y R^2 se seleccionan independientemente de alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} y alquinilo C_{2-4} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-4} , alquiltio C_{1-4} , hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-4} y di-(alquil C_{1-4})amino o R^2 es un grupo saliente apropiado, tal como succinimidilo, HOBt y pfp o R^0 y R^1 forman juntos una cadena de 3-5 átomos de carbono, en forma más preferida R^0 , R^1 y R^2 se seleccionan independientemente de alquilo C_{1-3} , alquenilo C_{2-3} y alquinilo C_{2-3} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-3} , alquiltio C_{1-3} , hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-3} y di-(alquil C_{1-3})amino, aún en forma más preferida R^0 y R^1 es alquilo C_{1-3} , en particular alquilo C_{1-3} sin ramificar y R^2 es alquilo C_{1-3} sustituido una o más veces con halógeno o R^2 es alquenilo C_{2-3} .

Convenientemente, los sustituyentes R^0 y R^1 en los agentes acilantes de fórmula (IIIa) como se definieron en cualquiera de las realizaciones anteriores, son los siguientes:

R^0 y R^1 se seleccionan independientemente de alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} y alquinilo C_{2-6} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-6} , alquiltio C_{1-6} ,

hidroxi, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₆ y di-(alquil C₁₋₆)amino, más conveniente R⁰ y R¹ se seleccionan independientemente de alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄ y alquinilo C₂₋₄ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, hidroxi, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₄ y di-(alquil C₁₋₄)amino, R⁰ y R¹ se seleccionan independientemente de alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ y alquinilo C₂₋₃ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₃, alquiltio C₁₋₃, hidroxi, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₃ y di-(alquil C₁₋₃)amino, en forma más preferida R⁰ y R¹ son independientemente alquilo C₁₋₄ y más preferido, R⁰ y R¹ es alquilo C₁₋₃, en particular alquilo C₁₋₃ sin ramificar, propilo apropiado.

Convenientemente, los sustituyentes R¹ y R² en los agentes acilantes de fórmula (IIIb) como se definieron en cualquiera de las realizaciones anteriores, son los siguientes:

R¹ y R² se seleccionan independientemente de alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ y alquinilo C₂₋₆ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, hidroxi, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₆ y di-(alquil C₁₋₆)amino o R² es otro grupo saliente, tal como succinimidilo, HOBt y pfp, más conveniente R¹ y R² se seleccionan independientemente de alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄ y alquinilo C₂₋₄ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, hidroxi, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₄ y di-(alquil C₁₋₄)amino o R² es otro grupo saliente, tal como succinimidilo, HOBt y pfp, preferentemente R¹ se selecciona de alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ y alquinilo C₂₋₃ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₃, alquiltio C₁₋₃, hidroxi, halógeno, amino, nitro, ciano,

149 

alquilamino C₁₋₃ y di-(alquil C₁₋₃)amino y R² es alquilo C₁₋₄sustituido una o más veces con halógeno, R² es alquenilo C₂₋₄ o R² es otro grupo saliente, tal como succinimidilo, HOBt y pfp, en forma más preferida R¹ es alquilo C₁₋₃, -alquenilo C₂₋₃ o alquinilo C₂₋₃ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₃, alquiltio C₁₋₃, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₃ y di-(alquil C₁₋₃)amino y R² es alquilo C₁₋₃sustituido una o más veces con halógeno o R² es alquenilo C₂₋₃, aún es más preferido que R¹ sea alquilo C₁₋₃ y R² sea alquilo C₁₋₃sustituido una o más veces con halógeno o R² es alquenilo C₂₋₃, y más conveniente R¹ es alquilo C₁₋₃, en particular alquilo C₁₋₃sin ramificar, tal como metilo, etilo o propilo y R² es alquenilo C₂₋₃.

R² que significa C₁₋₃-alquilo sustituido una o más veces con halógeno es un grupo saliente apropiado que incluye los grupos tales como 2,2,2-tricloroetilo y 2,2,2-trifluoretilo, en particular, 2,2,2-trifluoretilo.

En una realización específica de la invención, el agente acilante de fórmula (IIIb) anterior es un compuesto en donde R² es vinilo.

De acuerdo con otra realización específica de la invención, el agente acilante de fórmula (IIIb) es un compuesto como el anterior en donde R¹ es propilo. Esta realización específica abarca un agente acilante preferido de la invención, a saber butirato de vinilo.

De acuerdo con otra realización de la invención, el agente acilante es un compuesto de fórmula (IIIc).

Convenientemente, el sustituyente R¹ en el compuesto de fórmula (IIIc) como se definió en cualquiera de las realizaciones anteriores, son los siguientes: R¹ es alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ y alquinilo C₂₋₆ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano,

alquilamino C₁₋₄ y di-(alquil C₁₋₆)amino, más conveniente R¹ es alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄ y alquinilo C₂₋₄ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₄ y di-(alquil C₁₋₄)amino, preferentemente R¹ es alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ y alquinilo C₂₋₃ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con alcoxi C₁₋₃, alquiltio C₁₋₃, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₃ y di-(alquil C₁₋₃)amino, en forma más preferida R¹ es alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ o alquinilo C₂₋₃, y más conveniente R¹ es alquilo C₁₋₃, en particular alquilo C₁₋₃ sin ramificar, tal como metilo, etilo o propilo.

V es conveniente que se cloro.

El agente acilante utilizado de acuerdo con la invención puede ser además un isocianato de fórmula R¹-N=C=O o un isotiocianato de fórmula R¹-N=C=S.

De este modo, en otra realización de la invención, el agente acilante es un isotiocianato de fórmula R¹-N=C=O.

De este modo, en otra realización de la invención, el agente acilante es un isocianato de fórmula R¹-N=C=S.

Convenientemente, el sustituyente R¹ en el isocianato y el isotiocianato como se definió en cualquiera de las realizaciones anteriores, son los siguientes: R¹ es alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₄ y di-(alquil C₁₋₆)amino, más conveniente R¹ es alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄ o alquinilo C₂₋₄ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₄ y di-(alquil C₁₋₄)amino, preferentemente R¹ es alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ o alquinilo C₂₋₃

todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con alcoxi C₁₋₃, alquiltio C₁₋₃, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₃ y di-(alquil C₁₋₃)amino, en forma más preferida R¹ es alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ o alquinilo C₂₋₃ y más conveniente R¹ es alquilo C₁₋₃, en particular alquilo C₁₋₃ sin ramificar, tal como metilo, etilo o propilo.

La invención además abarca un método para la desacilación enzimática selectiva de un compuesto racémico de fórmula (IV) como se definió anteriormente.

Convenientemente, el compuesto racémico de fórmula (IV) utilizado, es un compuesto en donde Y es O, o S.

De acuerdo con otra realización el compuesto racémico de fórmula (IV) utilizado, es un compuesto en donde Y es O.

Aún en otra realización de la invención el compuesto racémico de fórmula (IV) utilizado es un compuesto en donde Y es S.

En otra realización de la invención el compuesto racémico de fórmula (IV) utilizado es un compuesto en donde Y es un enlace.

Convenientemente, el sustituyente R¹ en el compuesto racémico (IV) como se definió en cualquiera de las realizaciones anteriores, es el siguiente: alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₁₀, alquiltio C₁₋₁₀, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₁₀ y di-(alquil C₁₋₁₀)amino, más conveniente R¹ es alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de hidroxí, halógeno, amino, nitro y ciano, preferentemente R¹ es alquilo C₁₋₁₀, preferentemente alquilo C₁₋₁₀ sin ramificar y en forma más preferida R¹ es alquilo C₄₋₁₀ sin ramificar.

De acuerdo con la invención, la acilación enzimática selectiva se lleva a

cabo en condiciones de hidrólisis sustancialmente supresora. La hidrólisis, que es la reacción inversa de la reacción de acilación, se produce si el agua está presente en el sistema de reacción.

De este modo, la acilación enzimática selectiva se lleva a cabo preferentemente en un solvente orgánico libre de agua o un solvente orgánico casi anhidro (las enzimas normalmente requieren la presencia de algo de agua para ser activas). Los ejemplos a continuación, ilustran de qué manera la adición de agua afecta la conversión. El porcentaje de agua permitido en un sistema de reacción particular, puede estar determinado por un experto en la técnica.

El solvente orgánico que puede ser utilizado para la reacción de acilación, no es particularmente importante en tanto que no desactive la enzima utilizada. Los solventes apropiados incluyen hidrocarburos tales como hexano, heptano, benceno, y tolueno; éteres tales como dietil éter, diisopropil éter, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, terc-butil metil éter y dimetoxietano; cetonas tales como acetona, dietil cetona, butanona, y metil etil cetona; ésteres tales como acetato de metilo, acetato de etilo, butirato de etilo, butirato de vinilo y etil benzoato; hidrocarburos halogenados tales como cloruro de metileno, cloroformo y 1,1,1-tricloroetano, alcoholes secundarios y terciarios, tales como terc-butanol; solventes con contenido de nitrógeno tales como dimetilformamida, acetoamida, formamida, acetonitrilo, y propionitrilo; y solventes polares apróticos tales como dimetilsulfóxido, N-metilpirrolidona y hexametilfósforo triamida.

Entre ellos, se prefieren los hidrocarburos tales como hexano, heptano, benceno y tolueno, éteres tales como dietil éter, diisopropil éter, 1,4-dioxano y terc-butil metil éter y ésteres tales como butirato de vinilo. Para una enzima, los solventes más preferidos pueden ser los hidrocarburos aromáticos tales como benceno o tolueno y éteres, se prefiere tolueno y para otras enzimas los solventes más preferidos pueden ser éteres tales como 1,4-dioxano (ver los ejemplos a

continuación). Los solventes anteriores puede ser utilizados solos o en combinación de dos o más solventes.

La concentración de diol racémico de fórmula (II) y el agente acilante no deben ser demasiado elevados ya que una concentración elevada de reactivos en el solvente puede conducir a una acilación no-selectiva del diol racémico. La concentración apropiada de diol racémico y el reactivo acilante es por debajo de 1.0 M, más conveniente por debajo de 0.5 M, aún más apropiado por debajo de 0.2 M o aún más adecuado por debajo de 0.1 M. Una persona capacitada en la técnica podrá determinar la concentración óptima de diol racémico y del agente acilante.

La desacilación enzimática selectiva se lleva a cabo preferentemente en agua o una mezcla de agua y un solvente orgánico, adecuado en presencia de un buffer. El solvente orgánico que puede ser utilizado en la reacción, no es particularmente importante en la medida que no desactive la enzima utilizada. Los solventes orgánicos convenientes son los solventes miscibles con agua tales como alcoholes, acetonitrilo, DMF, DMSO, dioxano, DME y diglima. La persona capacitada podrá identificar otros solventes adecuados. Un experto en la técnica podrá determinar la concentración óptima del compuesto racémico de fórmula (IV) utilizado en la reacción.

La estereoselectividad de la enzima utilizada, puede incrementarse llevando a cabo la acilación o desacilación en presencia de un ácido orgánico y/o una base orgánica.

En consecuencia, la presente invención también se refiere a un proceso en donde la acilación enzimática o la desacilación enzimática se lleva a cabo en presencia de una base orgánica o un ácido orgánico o una mezcla de los mismos.

En una realización particular, la invención se refiere a un proceso en donde la acilación enzimática o la desacilación enzimática se llevan a cabo en presencia

de un ácido orgánico, es conveniente el ácido carboxílico orgánico.

En otra realización, la acilación enzimática se lleva a cabo en presencia de un ácido orgánico, convenientemente un ácido carboxílico orgánico.

El ácido orgánico anteriormente mencionado adecuado es un ácido carboxílico aromático o un ácido carboxílico alifático.

Como ácido orgánico que puede ser utilizado en la reacción, pueden mencionarse, ácidos alquil carboxílicos, ácidos cicloalquilcarboxílicos, ácidos cicloalquilcarboxílicos, ácidos fenil-alquilcarboxílicos opcionalmente sustituidos y ácidos fenilcarboxílicos opcionalmente sustituidos. Los ácidos carboxílicos alifáticos adecuados, son los ácidos carboxílicos tales como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido n-butírico, ácido iso-butírico, ácido 2-etilbutírico, ácido n-valérico, ácido iso-valérico, ácido pivalico, ácido n-caproico, ácido iso-caproico, ácido decanoico, ácido crotónico, ácido palmítico, ácido ciclopentanocarboxílico, ácido ciclohexancarboxílico, ácidos fenil-C₁₋₄-alquilcarboxílicos tales como ácido 3-fenilpropiónico, ácido 4-fenilbutírico, ácido oxalico, ácido malónico, y ácido tartárico. Los ácidos carboxílicos aromáticos adecuados, incluyen ácidos tales como ácido benzoico, ácido p-clorobenzoico, ácido p-nitrobenzoico, ácido p-metóxi benzoico, ácido p-toluico, ácido o-toluico, ácido m-toluico, ácido naftoico, ácido ftálico y ácido terftálico, ácido salicílico, ácido hidrocinnámico por ejemplo.

De este modo, de acuerdo con una realización de la invención, el ácido orgánico utilizado para mejorar la estereoselectividad de la enzima se selecciona de ácido n-propiónico, ácido iso-propiónico, ácido n-butírico, ácido iso-butírico, ácido iso-valérico, ácido 2-etilbutírico, ácido crotónico, ácido palmítico, ácido ciclohexancarboxílico, ácido pivalico, ácido benzoico, y ácido p-toluico, ácido salicílico y ácido 3-fenilpropiónico. De acuerdo con otra realización de la invención, el ácido carboxílico utilizado es ácido pivalico.

La cantidad del ácido orgánico a ser utilizada no está particularmente restringida, pero la relación molar relativa a un sustrato es usualmente 0,1 a 10, preferentemente 1,0 a 3,0 y más preferentemente 1,0 a 2,0.

Alternativamente, se puede utilizar una amina terciaria para mejorar la selectividad de la enzima, ya sea sola o en conjunto con cualquiera de los ácidos orgánicos mencionados anteriormente. Como base orgánica apropiada pueden mencionarse como preferidas, trietil amina, piridina, 4-dimetilaminopiridina y piridina. Las combinaciones apropiadas de ácido orgánico y base orgánica son ácido benzoico y piridina por ejemplo.

La cantidad de la amina terciaria a ser utilizada no está particularmente restringida, pero la relación molar en relación a un sustrato es usualmente 0,5 a 3,0 y preferentemente 0,5 a 2,0.

La acilación o desacilación enzimática de acuerdo con la invención se lleva a cabo utilizando una hidrolasa, tal como una lipasa, una esterasa, un acilato o una proteasa.

De este modo, de acuerdo con una realización de la invención, la acilación se realiza con una hidrolasa, tal como una lipasa, una esterasa, un acilato o una proteasa. Las enzimas útiles de acuerdo con la invención son las enzimas capaces de realizar una acilación R selectiva o una acilación S selectiva del grupo hidroxí primario en el compuesto racémico de fórmula (II).

De acuerdo con otra realización de la invención, la desacilación enzimática se realiza con una hidrolasa, tal como una lipasa, una acilasa o una proteasa. Las enzimas útiles de acuerdo con la invención son las enzimas capaces de realizar una desacilación R selectiva o una desacilación S selectiva del grupo acilo en el compuesto racémico de fórmula (IV).

Como se utiliza en la presente "hidrolasa" y "enzima" ya sea en general o en relación a una enzima específica, significa no sólo la enzima en si misma, sino

además los productos cultivados que contienen la enzima, tal como un fluido de cultivo que contiene un cuerpo celular, o un cuerpo celular cultivado, y el producto procesado del producto cultivado (por ejemplo un extracto crudo, un microorganismo o célula liofilizada, un microorganismo o célula secada con acetona, un producto molido de dicho microorganismo o célula, o similares).

Adicionalmente, la "enzima" o "hidrolasa" puede ser inmovilizada como la enzima en si misma o como un cuerpo celular mediante técnicas conocidas, y puede ser utilizada en forma inmovilizada. La inmovilización puede llevarse a cabo mediante métodos conocidos por la persona experta en la técnica, dichos métodos incluyen, por ejemplo unión por vehículo, entrecruzamiento, encapsulación y similares.

De este modo, en una realización de la invención la hidrolasa se utiliza en la forma de una enzima inmovilizada o enzimas cristalizadas y reticuladas (CLEC).

Se ha hallado que la acilación enzimática de acuerdo con la invención puede llevarse a cabo utilizando Novozyme 435, de Candida antartica, LipoZyme TL IM de Thermomyces lanuginosus o Lipoprotéina lipasa de pseudomonas sp. (aisladas de Pseudomonas Cepacia y obtenidas de Fluka), y particularmente se han obtenido buenos resultados cuando se utiliza Novozymes 435, de Candida antartica o Lipasa Lipoproteína pseudomonas sp.

De este modo, de acuerdo con una realización de la invención, la enzima utilizada es lipoprotéina lipasa de Pseudomonas sp., lipasa B de Candida antartica o lipasa de Thermomyces lanuginosus.

De acuerdo con otra realización de la invención, la enzima utilizada es lipoprotéina lipasa de Pseudomonas sp. o lipasa B de Candida antartica.

Como se mencionó anteriormente, el uso de una de las enzimas mencionadas anteriormente de acuerdo con la invención también abarca el uso

de productos cultivados que contienen la enzima, tal como un fluido de cultivo que contiene un cuerpo celular, o un cuerpo celular cultivado, el producto procesado del producto cultivado y cualquier forma inmovilizada de estas enzimas / productos cultivados.

El uso de cualquiera de las enzimas mencionadas en forma específica anteriormente de acuerdo con la invención también abarca el uso de mutantes, variantes o cualquier equivalente de las enzimas mencionadas específicamente, que son capaces de llevar a cabo la acilación o desacilación selectiva de acuerdo con la invención. Las variantes o equivalentes de las mismas pueden aislarse de varias cepas de *Pseudomonas*, *Candida* o *Thermomyces*, o cualquier otra fuente, o pueden prepararse mediante la mutación del ADN que codifica las enzimas mencionadas anteriormente que conducen a variaciones en la composición del aminoácido de la enzima. Los mutantes o variantes adecuadas de las enzimas mencionadas anteriormente son variantes y mutantes donde los aminoácidos simples han sido eliminados o reemplazados por otros aminoácidos, y la secuencia de aminoácidos adecuada de la variante o mutante es más del 60% idéntica, preferentemente más del 80% o más preferentemente más del 90% idéntica a las enzimas mencionadas anteriormente.

De este modo, de acuerdo con una realización de la invención, la enzima utilizada es lipoprotéina lipasa de *Pseudomonas* sp. o un mutante o variante de la misma. Preferentemente, se utiliza la lipoprotéina lipasa de *Pseudomonas* sp.

De acuerdo con otra realización de la invención, la enzima utilizada es lipasa B de *Candida antarctica* o un mutante o variante de la misma. Preferentemente, la enzima utilizada es lipasa B de *Candida antarctica*.

De acuerdo con otra realización de la invención la enzima es Novozyme®435 (lipasa B de *Candida antarctica* inmovilizada en resina acrílica, disponible de la compañía Novozymes A/S).

De acuerdo aún con otra realización de la invención, la enzima utilizada es lipasa de *Thermomyces lanuginosus* o un mutante o variante de la misma. Preferentemente, la enzima utilizada es lipasa de *Thermomyces lanuginosus*.

De acuerdo con otra realización de la invención, la enzima utilizada es Lipozyme™ TL IM, también disponible de la compañía Novozymes A/S.

Las condiciones de reacción preferidas para la acilación/desacilación enzimática difieren dependiendo de la enzima particular utilizada, si es inmovilizada o no, etc.

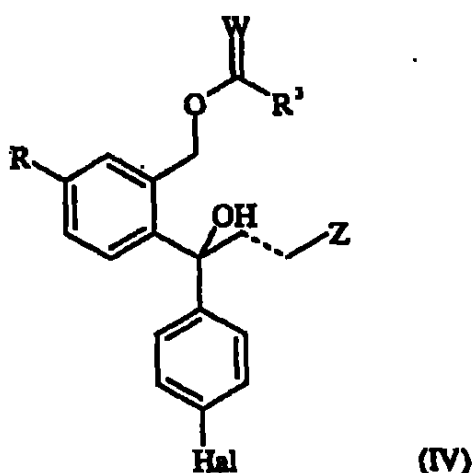
Una temperatura adecuada para la reacción está entre 0 – 80°C, más preferentemente entre 20 – 60°C, o más preferentemente entre 30 – 50°C.

La cantidad de enzima a ser utilizada no está particularmente restringida, pero es usualmente 0,01 – 1,0 preferentemente 0,02 – 0,5 y más preferentemente 0,02 – 0,3, como relación en peso respecto del sustrato.

La reacción puede llevarse a cabo como un proceso en lotes o puede llevarse a cabo como un proceso continuo. La enzima puede ser utilizada en una pluralidad de lotes en forma repetida o continua. El tiempo de reacción no está particularmente restringido, y dependerá de la enzima utilizada y la escala y tipo de método de producción (por lote o continuo).

La presente invención también se refiere a un enantiómero S o R de un compuesto que tiene la fórmula (IV)

1501
150



en donde R, Hal, R³, W, la línea punteada y Z son como se definieron anteriormente, o una sal de los mismos.

De acuerdo con una realización de la invención, el derivado de acilo ópticamente activo anterior es el enantiómero S. De acuerdo con otra realización de la invención, el derivado de acilo ópticamente activo anterior es el enantiómero R.

De acuerdo con una realización de la invención, el enantiómero R o S anterior es un compuesto donde R es halógeno o ciano, preferentemente R es ciano.

De acuerdo con otra realización de la invención, el enantiómero R o S anterior es un compuesto donde Hal es flúor.

De acuerdo con otra realización de la invención, el enantiómero R o S anterior es un compuesto donde la línea punteada representa un enlace simple.

En otra realización de la invención, el enantiómero R o S anterior es un compuesto donde Z es dimetilaminometilo o un grupo que puede convertirse en dimetilaminometilo, más conveniente Z es dimetilaminometilo, y los otros sustituyentes son como se definieron anteriormente.

En otra realización de la invención, el enantiómero R o S anterior es un

compuesto donde Z es dimetilaminometilo, Hal es flúor, la línea punteada representa un enlace simple, y R es ciano o halógeno, convenientemente ciano.

En otra realización de la invención, el enantiómero R o S anterior es un compuesto donde Y es O, o S, preferentemente Y es Q y los otros sustituyentes son como se definieron anteriormente. En una realización de la invención, el enantiómero R o S anterior es un compuesto en donde Y es S y los otros sustituyentes son como se definieron anteriormente.

En otra realización de la invención, el enantiómero R o S anterior es un compuesto donde Y es un enlace y los otros sustituyentes son como se definieron anteriormente.

En otra realización de la invención, el enantiómero R o S anterior es un compuesto donde Y es NH y los otros sustituyentes son como se definieron anteriormente.

Convenientemente, el enantiómero R o S como se definió en cualquiera de las realizaciones anteriores es un compuesto donde R¹ es alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con los sustituyentes seleccionados de alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₆ y di-(alquil C₁₋₆)amino, más conveniente R¹ es alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄ o alquinilo C₂₋₄ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con los sustituyentes seleccionados de alcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₄ y di-(alquil C₁₋₄)amino, preferentemente R¹ es alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ o alquinilo C₂₋₃ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con los sustituyentes seleccionados de alcoxi C₁₋₃, alquiltio C₁₋₃, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₃ y di-(alquil C₁₋₃)amino y en forma más preferida R¹ es alquilo C₁₋₃, en particular alquilo C₁₋₃ no ramificado.

De acuerdo con otra realización de la invención, el enantiómero R o S como se definió en cualquiera de las realizaciones anteriores es un compuesto donde R¹ es lo siguiente: alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀ todos los cuales pueden ser opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de alcoxi C₁₋₁₀, alquiltio C₁₋₁₀, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₆ y di-(alquil C₁₋₁₀)amino, más conveniente R¹ es alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀ todos los cuales pueden ser opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de hidroxí, halógeno, amino, nitro y ciano, preferentemente R¹ es alquilo C₁₋₁₀, preferentemente alquilo C₁₋₁₀ no ramificado y con mayor preferencia R¹ es C₄₋₁₀ no ramificado.

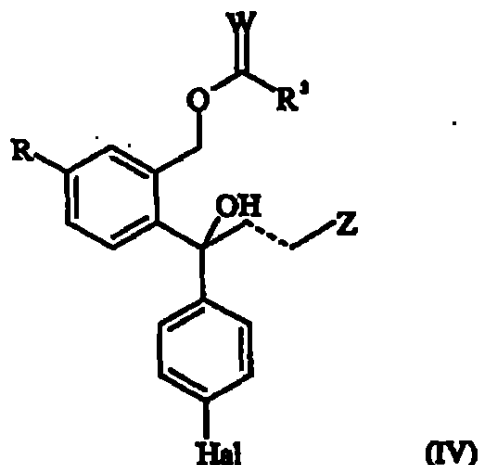
Al cabo de la finalización de la reacción de acilación o la reacción de desacilación, un enantiómero del derivado diol representado por la fórmula (II) se obtiene como una mezcla con el enantiómero opuesto del compuesto de fórmula (IV). Esta mezcla de reacción luego se separa opcionalmente de la enzima.

A fin de obtener el enantiómero deseado de fórmula (II) y/o (IV) con elevada pureza química, es necesario separarlo del enantiómero opuesto de fórmula (IV) y (II), respectivamente, de manera eficiente. Sin embargo, es difícil separar los enantiómeros de forma eficiente mediante los métodos generalmente conocidos porque la estructura del derivado de acilo de fórmula (IV) es similar a la estructura del diol de fórmula (II).

Los presentes inventores han efectuado intensas investigaciones y como resultado han hallado que el enantiómero de un compuesto de fórmula (II) en la forma de una sal con un ácido se distribuye de manera eficiente dentro de una capa acuosa y el enantiómero opuesto de un compuesto de fórmula (IV) en la forma de una sal con el ácido se distribuye de manera eficiente en una capa

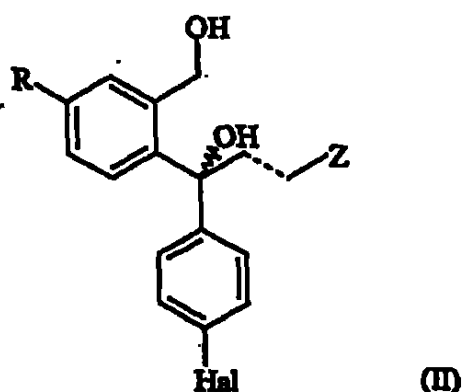
orgánica cuando la mezcla de reacción se trata con un solvente mezclado que contiene solvente orgánico y agua en presencia de un ácido.

De este modo, de acuerdo con otra realización, la invención se refiere a un método para el aislamiento y purificación de un derivado de acilo que tiene la fórmula



donde R es ciano o un grupo que puede convertirse a un grupo ciano, Hal es halógeno, la línea punteada es un enlace doble o simple y Z es un grupo $-\text{CH}_2-\text{N}(\text{R}'\text{R}'')$ donde R' y R'' son alquilo C_{1-8} , o R' y R'' están conectados entre si para formar una estructura cíclica que incluye el N-átomo al cual están unidos, o Z es un grupo que puede convertirse a un grupo dimetilaminometilo, W es O o S y R^3 es $-\text{Y}-\text{R}^1$ donde Y es un enlace, O, S o NH y R^1 es alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} o alquinilo C_{2-10} todos los cuales pueden ser opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} , di-(alquil C_{1-10})amino, arilo, ariloxi, ariltio y heteroarilo, o R^1 es arilo, donde cualquiera de los grupos arilo y heteroarilo puede estar opcionalmente sustituidos una o más veces con

sustituyentes seleccionados de alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, alcoxi C₁₋₁₀, alquiltio C₁₋₁₀, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₁₀ y di-(alquil C₁₋₁₀)amino y/o un diol de fórmula



donde R, Hal, la línea punteada y Z son como se definieron anteriormente, o una sal de los mismos, de una mezcla que contiene un compuesto de fórmula (IV) y un diol de fórmula (II), que comprende:

a) tratar dicha mezcla que contiene el acilo de fórmula (IV) y el diol de fórmula (II) en una mezcla de agua y un solvente orgánico en presencia de un ácido;

b) separar la fase acuosa que contiene el diol de fórmula (II) como una sal de dicho ácido de la fase orgánica para obtener una fase orgánica que contiene el derivado de acilo de fórmula (IV) como una sal de dicho ácido;

aislar opcionalmente el compuesto de fórmula (II) como una base o como una sal del mismo, y opcionalmente el compuesto de fórmula (IV) como la base o como una sal del mismo.

De acuerdo con una realización de la invención R es halógeno o ciano, preferentemente ciano en el método para el aislamiento y purificación anterior.

De acuerdo con otra realización de la invención Hal es flúor en el método para el aislamiento y purificación anterior.

De acuerdo con una realización preferida, la línea punteada representa un enlace simple.

En otra realización de la invención, Z es dimetilaminometilo o un grupo que puede convertirse a un grupo dimetilaminometilo. Es conveniente que Z sea dimetilaminometilo.

De acuerdo con una realización preferida de la invención Hal es flúor, Z es dimetilaminometilo, la línea punteada es un enlace simple y R es ciano o halógeno, preferentemente ciano.

En otra realización de la invención el compuesto de fórmula (IV) en el método para el aislamiento y la purificación anterior, es un compuesto donde Y es O, o S, preferentemente Y es O, y los otros sustituyentes son como se definieron anteriormente. En una realización posterior de la invención el compuesto de fórmula (IV) en el método para el aislamiento y la purificación anterior, es un compuesto donde Y es S.

En otra realización de la invención el compuesto de fórmula (IV) en el método para el aislamiento y purificación anterior, es un compuesto donde Y es un enlace y los otros sustituyentes son como se definieron anteriormente.

En una realización posterior de la invención el compuesto de fórmula (IV) en el método para el aislamiento y la purificación anterior, es un compuesto donde Y es NH y los otros sustituyentes son como se definieron anteriormente.

En una realización preferida de la invención, el compuesto de fórmula (IV) en el método para el aislamiento y purificación anterior, es un compuesto donde R¹ es alquilo C₁₋₆, alquenilo C₂₋₆ o alquinilo C₂₋₆ todos los cuales pueden ser

opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de alcoxi C₁₋₆, alquiltio C₁₋₆, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₆ y di-(alquil C₁₋₆)amino, en forma más preferida R¹ es alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄ o alquinilo C₂₋₄ todos los cuales pueden ser opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de alcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₄ y di-(alquil C₁₋₄)amino, preferentemente R¹ es alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ y alquinilo C₂₋₃ todos los cuales pueden ser opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de alcoxi C₁₋₃, alquiltio C₁₋₃, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₃ y di-(alquil C₁₋₃)amino y en forma más preferida R¹ es alquilo C₁₋₃, en particular alquilo C₁₋₃ sin ramificar.

En otra realización preferida de la invención, el compuesto de fórmula (IV) en el método para el aislamiento y purificación anterior, es un compuesto donde R¹ es lo siguiente: alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀ todos los cuales pueden ser opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de alcoxi C₁₋₁₀, alquiltio C₁₋₁₀, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₆ y di-(alquil C₁₋₁₀)amino, más conveniente R¹ es alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀ todos los cuales pueden ser opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de hidroxí, halógeno, amino, nitro y ciano, preferentemente R¹ es alquilo C₁₋₁₀, preferentemente alquilo C₁₋₁₀ no ramificado y en forma más preferida R¹ es alquilo C₄₋₁₀ sin ramificar.

Mediante el método anterior para el aislamiento y purificación, una sal del enantiómero R o S de un compuesto que tiene la fórmula (II) con un ácido puede extraerse de forma selectiva en una capa acuosa y una sal del enantiómero opuesto de un compuesto de fórmula (IV) con un ácido puede separarse selectivamente en una capa orgánica mediante tratamiento, en presencia del

ácido, de una mezcla que comprende un enantiómero de fórmula (II) y el enantiómero opuesto de fórmula (IV), el solvente de reacción y similares con un solvente orgánico y agua, y en presencia de un ácido. En este caso, la sal del enantiómero de fórmula (IV) y la sal del enantiómero de fórmula (II) pueden separarse con poca pérdida de los enantiómeros deseados.

De acuerdo con una realización del método anterior para el aislamiento y purificación, el enantiómero S del compuesto de fórmula (IV) se aísla del enantiómero R del compuesto de fórmula (II).

De acuerdo con otra realización del método anterior para aislamiento y purificación, el enantiómero S del diol de fórmula (II) se aísla del enantiómero R del derivado de acilo de fórmula (IV).

La cantidad de agua a ser utilizada es 1:2 a 1:100, preferentemente 1:5 a 1:50, como una relación entre el compuesto de fórmula (II) y agua. Además previo a la extracción con agua, el solvente de reacción puede evaporarse para reducir la cantidad del mismo o puede estar sustituido con otro solvente orgánico.

El ácido que puede ser utilizado en el proceso de aislamiento y purificación anterior no está particularmente restringido, pero por ejemplo, puede mencionarse, ácidos minerales tales como ácido clorhídrico, ácido sulfúrico y ácido fosfórico; ácidos orgánicos, en particular ácidos carboxílicos, representados por ácidos carboxílicos alifáticos tales como ácido fórmico, ácido acético, ácido propiónico, ácido n-butírico, ácido iso-butírico, ácido n-valerico, ácido iso-valerico, ácido pivalico, ácido n-caproico, ácido iso-caproico, ácido ciclopentancarboxílico, ácido ciclohexancarboxílico, ácido oxálico, ácido malónico, y ácido tartárico; o ácidos carboxílicos aromáticos tales como ácido benzoico, ácido p-clorobenzoico, ácido p-nitrobenzoico, ácido p-metoxibenzoico, ácido p-toluico, ácido o-toluico, ácido m-toluico, ácido naftoico, ácido ftálico y ácido tereftálico. Entre ellos, se prefieren los ácidos orgánicos, en particular, ácidos carboxílicos tales como n-

butirato, iso-valerato, ácido ciclohexancarboxílico, ácido pivalico, ácido benzoico, y ácido o-toluico, y particularmente se prefiere el ácido pivalico. Huelga decir, los ácidos anteriores pueden utilizarse solos o en una combinación de dos o más especies. La cantidad de los ácidos a ser utilizados no está particularmente restringida, pero la relación molar de la suma de los compuestos de las fórmulas (IV) y (II) y ácido, es usualmente 1:1 a 1:5, y preferentemente 1:1 a 1:3.

El ácido utilizado en el presente paso de aislamiento y purificación puede ser el mismo que el ácido orgánico utilizado en la reacción de acilación y desacilación de acuerdo con la invención o puede ser uno diferente.

Como un solvente orgánico que puede ser utilizado en el paso de aislamiento y purificación, puede mencionarse, por ejemplo, los hidrocarburos tales como hexano, heptano, benceno y tolueno; éteres tales como dietil éter, tetrahidrofurano, 1,4-dioxano, terc-butil metil éter y dimetoxietano; cetonas tales como acetona, dietil cetona y metil etil cetona; ésteres tales como acetato de metilo, acetato de etilo, butirato de etilo y benzoato de etilo; hidrocarburos halogenados tales como cloruro de metileno, cloroformo y 1,1,1-tricloroetano. Entre ellos, los hidrocarburos alifáticos, tales como hexano y heptano y los hidrocarburos aromáticos, tales como benceno y tolueno se prefieren. Los más preferidos son los hidrocarburos aromáticos y el más preferido es el tolueno. Los solventes anteriores pueden ser utilizados solos o en una combinación de dos o más solventes.

La temperatura del paso de aislamiento y purificación es preferentemente de 0 a 80°C, y más preferentemente de 10 a 40 °C y la más preferida es de 20 a 30°C.

A continuación, la separación de las sales de los compuestos de fórmula (II) y (IV) de acuerdo con el método anterior para aislamiento y purificación, cantidades menores del compuesto de fórmula (IV) que se mezcla en parte en

una capa acuosa de la sal del compuesto de fórmula (II) con un ácido, y similares pueden removerse de manera eficiente mediante el lavado de la capa acuosa con un solvente orgánico.

La sal del diol de fórmula (II) puede ser utilizada como una solución acuosa de la sal, y si es necesario, puede ser utilizada como una solución en otro solvente o un concentrado obtenido mediante concentración, sustitución del solvente u operación similar. Además, puede utilizarse como un cristal obtenido por cristalización u operación similar. Sin embargo, es usual que el diol de la fórmula (II) sea utilizado como una forma de diol libre obtenida mediante las siguientes operaciones: Una mezcla que contiene el diol de fórmula (II) y un solvente orgánico y/o su concentrado se obtiene tratando una capa acuosa con una base general tal como hidróxido de sodio o hidróxido de potasio para controlar que el pH de la capa acuosa sea al menos 9, preferentemente al menos 11, luego extraer la forma de amina libre del diol de fórmula (II) con un solvente orgánico, seguido de lavado y concentración del extracto. La pureza química del diol de fórmula (II) obtenido mediante la serie del método de aislamiento y purificación es usualmente al menos 95%, preferentemente al menos 97%, más preferentemente al menos 99% y más preferentemente al menos 99,5%.

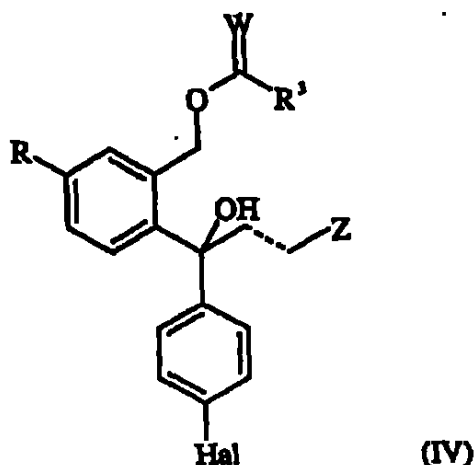
Por otro lado, el compuesto de fórmula (IV) obtenido mediante las operaciones anteriores puede lavarse con una fase acuosa para mejorar la pureza química del producto. El compuesto de fórmula (IV) puede obtenerse como una forma de amina libre tratando la sal de amonio del compuesto de fórmula (IV), obtenido mediante las operaciones anteriores, con una base. La pureza química del diol de fórmula (IV) obtenido por el método de aislamiento y purificación es usualmente al menos 95%, preferentemente al menos 97%, más preferentemente al menos 99% y más preferentemente al menos 99,5%.

La pureza óptica del producto obtenido después de la separación de los enantiómeros de fórmula (II) y (IV) anteriores, puede ser mejorada antes del procesamiento posterior. La mejora de la pureza óptica puede obtenerse mediante cromatografía como se describe en el documento WO 03/011278 o mediante cristalización de los ésteres o sales diastereoméricos con ácidos ópticamente activos como se describió en la Patente Estadounidense No. 4.943.5990.

De acuerdo con otra realización de la invención, la mezcla del compuesto de fórmula (II) y el compuesto de fórmula (IV) que se separa mediante el método anterior para aislamiento y purificación ha sido preparada mediante la acilación selectiva y en otra realización mediante la desacilación selectiva de acuerdo con la invención.

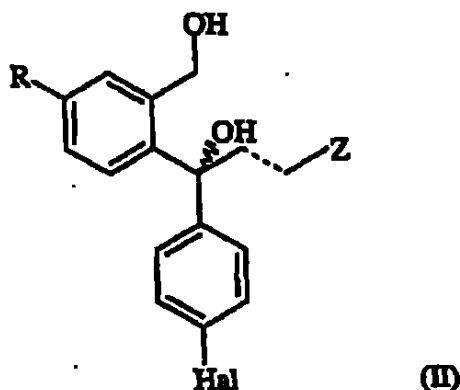
La invención además se refiere a otro método nuevo para la separación del R-diol o S de fórmula (II) a partir del derivado de acilo de fórmula (IV) del otro enantiómero por lo que el compuesto deseado puede aislarse y purificarse.

De acuerdo con este otro método para aislamiento y purificación, el derivado de acilo tiene la fórmula



donde R es ciano o un grupo que puede convertirse a un grupo ciano, Hal es halógeno, la línea punteada representa un enlace doble o simple, Z es un grupo $-\text{CH}_2\text{N}(\text{R}'\text{R}'')$ donde R' y R'' son alquilo C₁₋₈, o R' y R'' están conectados entre si para formar una estructura cíclica que incluye el átomo N al cual están unidos, o Z es un grupo que puede convertirse a un grupo dimetilaminometilo, W es O o S; y R³ es $-\text{Y}-\text{R}^1$ donde Y es un enlace, O, S o NH y R¹ es alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀ todos los cuales pueden ser opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de alcoxi C₁₋₁₀, alquiltio C₁₋₁₀, hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₁₀, di-(alquil C₁₋₁₀)amino, arilo, ariloxi, ariltio y heteroarilo, o R¹ es arilo, donde cualquiera de los grupos arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo, C₂₋₁₀, alcoxi C₁₋₁₀, alquiltio C₁₋₁₀, hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₁₀ y di-(alquil C₁₋₁₀)amino, o una sal de los mismos.

y/o el diol de fórmula



donde R, Hal, la línea punteada y Z son como se definieron anteriormente, o una sal del mismo, aislados a partir de una mezcla que contiene un compuesto de fórmula (IV) y un compuesto de fórmula (II), mediante un método que comprende:

a) tratar dicha mezcla que contiene el compuesto de fórmula (IV) y el diol de fórmula (II) en una mezcla de agua, solvente orgánico aprótico y un solvente orgánico apolar;

b) separar la fase acuosa que contiene el diol de fórmula (II), a partir de la fase orgánica para obtener una fase orgánica que contiene el compuesto de fórmula (IV);

aislar opcionalmente el diol de fórmula (II) y/o (IV) como una base y opcionalmente la conversión del compuesto de fórmula (II) y/o (IV) a una sal del mismo.

Cualquiera de las fases aisladas anteriores (acuosa y orgánica) adicionalmente pueden lavarse una o más veces con un solvente orgánico o acuoso, respectivamente para mejorar la pureza química del producto.

De acuerdo con una realización del método anterior para el aislamiento y purificación, el S-diol del compuesto de fórmula (II) se separa del enantiómero R del compuesto de fórmula (IV).

De acuerdo con otra realización del método anterior para aislamiento y purificación, el enantiómero S del compuesto de fórmula (IV) se separa del enantiómero R del compuesto de fórmula (II).

De acuerdo con una realización de la invención R es halógeno o ciano, preferentemente ciano en el método para aislamiento y purificación anterior.

De acuerdo con otra realización de la invención Hal es flúor en el método para aislamiento y purificación anterior.

De acuerdo con una realización preferida, la línea punteada representa un enlace simple.

En otra realización de la invención, Z es dimetilaminometilo o un grupo que puede convertirse a un grupo dimetilaminometilo. Z apropiado es dimetilaminometilo.

De acuerdo con una realización preferida de la invención Hal es flúor, Z es dimetilaminometilo, la línea punteada es un enlace simple y R es ciano o halógeno, preferentemente ciano.

En otra realización de la invención el compuesto de fórmula (IV) en el método para el aislamiento y la purificación anterior, es un compuesto donde Y es O, o S, preferentemente Y es O y los otros sustituyentes son como se definieron anteriormente. En una realización posterior de la invención, el compuesto de fórmula (IV) en el método para el aislamiento y la purificación anterior, es un compuesto, donde Y es S.

En una realización posterior de la invención el compuesto de fórmula (IV) en el método para el aislamiento y purificación anterior, es un compuesto donde Y es un enlace y los otros sustituyentes son como se definieron anteriormente.

En una realización posterior de la invención el compuesto de fórmula (IV) en el método para el aislamiento y la purificación anterior, es un compuesto donde Y es NH y los otros sustituyentes son como se definieron anteriormente.

En una realización preferida de la invención, el compuesto de fórmula (IV) en el método para el aislamiento y la purificación anterior, es un compuesto donde R¹ es alquilo C₁₋₈, alquenilo C₂₋₈ o alquinilo C₂₋₈ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₈, alquiltio C₁₋₈, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₈ y di-(alquil C₁₋₈)amino, en forma más preferida R¹ es alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄ o alquinilo C₂₋₄ todos los cuales pueden estar opcionalmente

sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₄ y di-(alquil C₁₋₄)amino, preferentemente R¹ es alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ o alquinilo C₂₋₃ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₃, alquiltio C₁₋₃, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₃ y di-(alquil C₁₋₃)amino y en forma más preferida R¹ es alquilo C₁₋₃, en particular alquilo C₁₋₃ no ramificado.

En otra realización preferida de la invención, el compuesto de fórmula (IV) en el método para el aislamiento y la purificación anterior, es un compuesto donde R¹ es lo siguiente: alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₁₀, alquiltio C₁₋₁₀, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₆ y di-(alquil C₁₋₁₀)amino, más conveniente R¹ es alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de hidroxí, halógeno, amino, nitro y ciano, preferentemente R¹ es alquilo C₁₋₁₀, preferentemente alquilo C₁₋₁₀ no ramificado y con mayor preferencia R¹ es alquilo C₄₋₁₀ no ramificado.

Como solvente orgánico prótico que puede ser utilizado en el paso de la aislamiento y la purificación, pueden mencionarse, por ejemplo, alcoholes tales como metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-butanol, 2-butanol y terc-butanol. Los solventes anteriores pueden ser utilizados solos o en una combinación de dos o más especies.

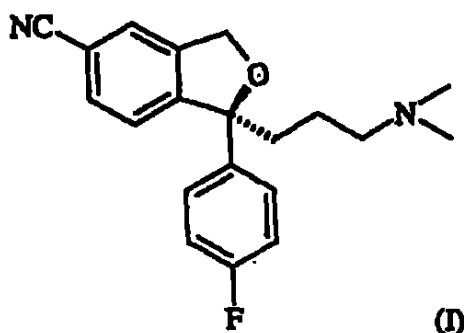
Como solvente orgánico apolar que puede ser utilizado en el paso del aislamiento y la purificación, pueden mencionarse, por ejemplo, hidrocarburos tales como hexano, heptano, benceno, y tolueno; éteres tales como dietil éter, terc-butil metil éter y dimetoxietano; hidrocarburos halogenados tales como

cloruro de metileno, cloroformo 1,1,1-tricloroetano. Entre ellos, se prefieren los hidrocarburos tales como hexano, heptano, benceno y tolueno, y el más preferido es heptano. Los solventes anteriores pueden ser utilizados solos o en una combinación de dos o más especies.

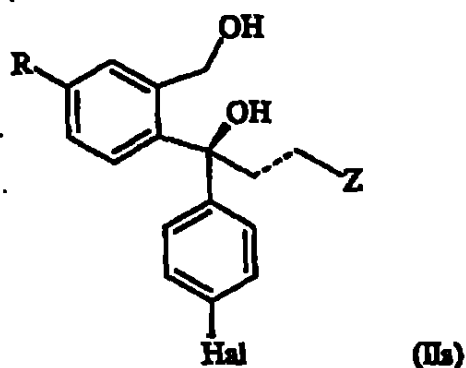
De acuerdo con una realización específica de la invención, la mezcla del compuesto de fórmula (IV) y el diol de fórmula (II) utilizado en el método anterior para el aislamiento y la purificación ha sido preparado mediante la acilación enzimática de acuerdo con la invención y en otra realización mediante desacilación enzimática de acuerdo con la invención.

La pureza óptica del producto obtenido después de la separación de los enantiómeros de fórmula (II) y (IV) como las anteriores, pueden ser mejoradas antes de un procesamiento posterior. La mejora de la pureza óptica puede obtenerse mediante cromatografía tal como se describió en el documento WO 03/006449 o mediante cristalización de ésteres o sales diastereoméricas con ácidos ópticamente activos como se describió en la Patente Estadounidense No. 4.943.590.

La presente invención además se refiere a un proceso para la preparación de escitalopram que tiene la fórmula

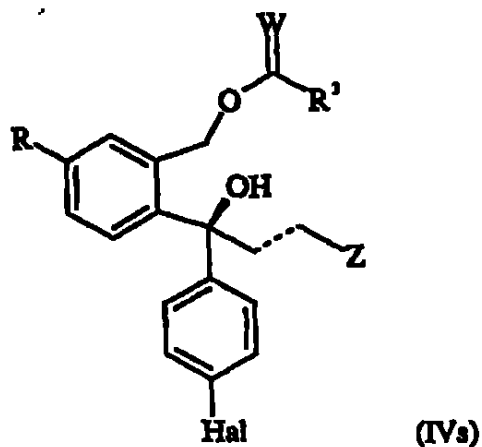


o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que comprende la preparación del enantiómero S de un diol que tiene la fórmula

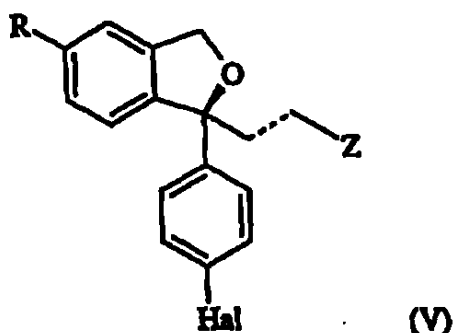


donde R es ciano o un grupo que puede convertirse a un grupo ciano, la línea punteada representa un enlace doble o uno simple, Z es un grupo dimetilaminometilo o un grupo que puede convertirse a un grupo dimetilaminometilo y Hal es halógeno, o una sal del mismo.

o el enantiómero S de un diol acilado que tiene la fórmula



donde R, Z, la línea punteada y Hal son como se definieron anteriormente, W es O o S, y R^3 es $-Y-R^1$, donde R^1 es alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} o alquinilo C_{2-10} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} , di-(alquil C_{1-10})amino, arilo, ariloxi, ariltio y heteroarilo, o R^1 es arilo, donde cualquiera de los grupos arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} y di-(alquil C_{1-10})amino y Y es un enlace, O, S o NH o una sal del mismo, en una realización mediante el método para la acilación enzimática selectiva de acuerdo con la invención como se definió en cualquiera de las realizaciones anteriores y en otra realización mediante el método para la desacilación enzimática selectiva de acuerdo con la invención como se definió en cualquiera de las reivindicaciones anteriores, seguido opcionalmente por, en cualquier orden, la conversión del grupo R a un grupo ciano, la reducción de un enlace doble representado por la línea punteada, la conversión del grupo Z a un grupo dimetilaminometilo y/o la conversión del grupo Hal a un grupo flúor y el cierre de anillo en condiciones básicas del enantiómero S de fórmula (IIIs) o (IVs) o un derivado de éster lábil del mismo para formar un compuesto de fórmula



seguido de, en cualquier orden; si R no es ciano la conversión del grupo R a un grupo ciano, si la línea punteada representa la reducción de un enlace doble a un enlace simple, si Z no es dimetilaminometilo la conversión del grupo Z a un grupo dimetilaminometilo y si Hal no es flúor, la conversión de Hal a un grupo flúor, seguido del aislamiento de escitalopram o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

De acuerdo con una realización de la invención, el enantiómero S de fórmula (IIs) anterior o el enantiómero S de fórmula (IVs) utilizado para la preparación de escitalopram se separa del enantiómero R de fórmula (IV) y (II) respectivamente, antes del cierre del anillo.

De acuerdo con una realización del método anterior para la preparación de escitalopram la mezcla del enantiómero R o S de un compuesto de fórmula (II) y el enantiómero opuesto del compuesto de fórmula (IV) obtenido mediante acilación enzimática han sido separados uno de otro mediante el proceso de aislamiento y purificación de acuerdo con uno de los métodos nuevos anteriores para aislamiento y purificación. De acuerdo con otra realización, la mezcla ha sido separada por el otro de los métodos nuevos anteriores para aislamiento y purificación.

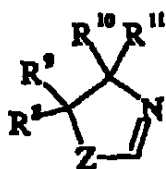
De acuerdo aún con otra realización del método anterior para la preparación de escitalopram la mezcla del enantiómero R o S de un compuesto de fórmula (II) y el enantiómero opuesto del compuesto de fórmula (IV) obtenido mediante la desacilación enzimática han sido separados uno de otro mediante el proceso de aislamiento y purificación de acuerdo con uno de los métodos nuevos anteriores para el aislamiento y la purificación. De acuerdo con otra realización, la mezcla ha sido separada mediante el otro de los métodos nuevos anteriores para aislamiento y purificación.

De acuerdo con otra realización de la invención, el enantiómero S de fórmula (IIs) anterior o el enantiómero S de fórmula (IVs) utilizado para la preparación de escitalopram no se separa del enantiómero R de fórmula (IV) y (II) respectivamente, antes del cierre del anillo.

Como se mencionó anteriormente, el grupo R significa ciano o cualquier otro grupo que puede convertirse a un grupo ciano.

Los grupos que pueden convertirse a un grupo ciano incluyen halógeno tal como cloro, bromo, yodo o flúor, preferentemente cloro o bromo.

Otros grupos que pueden convertirse a ciano incluyen $\text{CF}_3(\text{CF}_2)_n\text{SO}_2\text{O}-$, donde n es 0-8, -OH, -CHO, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{NO}_2$, $-\text{CH}_2\text{Cl}$, $-\text{CH}_2\text{Br}$, $-\text{CH}_3$, $-\text{NHR}^5$, $-\text{CHNOH}$, $-\text{COOR}^6$, $-\text{CONR}^6\text{R}^7$ donde R^5 es hidrógeno o C_{1-6} alquilcarbonilo, y R^6 y R^7 se seleccionan de hidrógeno, C_{1-6} alquilo opcionalmente sustituido, aril- C_{1-6} alquilo o arilo y, un grupo de fórmula



(VII)

179
20

donde Z es O o S; $R^9 - R^9$ son cada uno independientemente seleccionados de hidrógeno y C_{1-6} alquilo o R^9 y R^9 juntos forman una cadena de C_{2-5} alquileo formando de este modo un anillo espiro; R^{10} se selecciona de hidrógeno y C_{1-6} alquilo, R^{11} se selecciona de hidrógeno, C_{1-6} alquilo, un grupo carboxi o un grupo precursor por lo tanto, o R^{10} y R^{11} juntos forman una cadena de C_{2-5} alquileo formando de este modo un anillo espiro.

Cuando R es halógeno, en particular bromo o cloro, la conversión a un ciano puede llevarse a cabo según se describe en los documentos US 4.136.193, WO 00/13648, WO 00/11926 y WO 01/02383.

De acuerdo con la Patente Estadounidense 4.136.193 la conversión de un grupo bromo a un grupo ciano, se lleva a cabo mediante la reacción con CuCN.

Los documentos WO 00/13648 y WO 00/11926 describen la conversión de un halógeno o un grupo triflato en un grupo ciano mediante la cianación con una fuente de cianuro en presencia de un catalizador Pd o Ni.

Otros procesos para la conversión de un compuesto de bromo al derivado de ciano correspondiente involucran la reacción del compuesto bromo con magnesio para formar un reactivo de Grignard, seguido de la reacción con un formamida para formar un aldehído. El aldehído se convierte a una oxima o una hidrazona que se convierte a un grupo ciano mediante deshidratación y oxidación, respectivamente.

Alternativamente, el compuesto de bromo se hace reaccionar con magnesio para formar un reactivo Grignard, seguido de la reacción con un compuesto que contiene un grupo CN ligado a un grupo saliente.

Una descripción detallada de los dos procedimientos anteriores puede hallarse en el documento WO 01/02383.

Los compuestos en donde el grupo R es $-\text{CHO}$, pueden convertirse a los compuestos correspondientes donde R es ciano mediante métodos análogos a los descritos en el documento WO 99/00210.

Los compuestos donde el grupo R es NHR^{12} , donde R^{12} es hidrógeno o alquilcarbonilo, puede convertirse a los correspondientes compuestos donde el grupo R es ciano mediante métodos análogos a los descritos en el documento WO 98/19512.

Los compuestos donde R es un grupo $-\text{COOR}^6$, puede convertirse al compuesto correspondiente donde R es ciano por conversión a la amida mediante el cloruro de ácido correspondiente o un éster del mismo seguido de deshidratación de la amida. WO 01/68632.

Alternativamente, un compuesto donde R es $-\text{COOH}$ puede hacerse reaccionar con isocianato de clorosulfonilo para formar el nitrilo, o puede tratarse con un agente deshidratante y una sulfonamida como se describe en WO 00/44738.

Los compuestos donde el grupo R es $-\text{CONR}^{13}\text{R}^{14}$, donde R^{13} y R^{14} se seleccionan de hidrógeno, alquilo aralquilo, o arilo opcionalmente sustituido, pueden convertirse al correspondiente compuesto de ciano mediante métodos análogos a los descritos en los documentos WO 98/00081 y WO 98/19511.

Los compuestos donde el grupo R es un grupo de fórmula (VII) pueden convertirse al correspondiente compuesto de ciano mediante los métodos análogos a los descritos en el documento WO 00/23431.

Los compuestos donde R es OH, $-\text{CH}_2\text{OH}$, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, $-\text{CH}_2\text{NO}_2$, $-\text{CH}_2\text{Cl}$, $-\text{CH}_2\text{Br}$, $-\text{CH}_3$ o cualquiera de los grupos anteriores, pueden convertirse a los compuestos de ciano correspondientes mediante métodos análogos a los descritos en el documento WO 01/168632.

Los compuestos racémicos de fórmula (II) pueden prepararse mediante los

métodos descriptos en las patentes antes mencionadas o mediante el método de alquilación descripto en la Patente Estadounidense No. 4.136.193 o la reacción de grignard doble descripta en el documento EP 171 943 o mediante métodos análogos. Los compuestos racémicos de fórmula (IV) pueden prepararse a partir de los compuestos racémicos de fórmula (II) mediante la acilación no-selectiva utilizando anhídridos, ésteres, carbonatos, isocianatos o isotiocianatos como se definieron mediante las fórmulas (IIIa), (IIIb), (IIIc), $R^1-N=C=O$ y $R^1-N=C=S$ anteriores.

En algunos casos el compuesto racémico de fórmula (II) puede estar disponible en la forma de un sal de adición de ácido, tal como sal de sulfato, en este caso una base libre del compuesto de fórmula (II) puede obtenerse mediante el tratamiento de la sal con una base en una mezcla o agua y un solvente orgánico, para transferir el compuesto de fórmula (II) en la fase orgánica.

Preferentemente, R es ciano en los compuestos de fórmula (II), (IIa), (IIb), (IV) (IVa) (IVb) y (V). Si R no es ciano, la conversión del grupo R a un grupo ciano se lleva a cabo en forma conveniente después del cierre del anillo para formar un compuesto de fórmula (V).

Preferentemente, Hal es flúor en los compuestos de fórmula (II), (IIa), (IIb), (IV) (IVa) (IVb) y (V). Si Hal no es flúor, la conversión del grupo Hal a un flúor se lleva a cabo convenientemente después del cierre del anillo para formar un compuesto de fórmula (V). Un procedimiento para llevar a cabo la conversión se describe en "Specialty Chemicals Magazine" (Revista de Especialidades Químicas), Abril 2003, página 36-38.

Los grupos Z que pueden convertirse a dimetilaminometilo son los grupos tales como $-CH_2-L$, $-CH_2-NO_2$, $-MgHal$, ciano, aldehído, $-CH_2-O-Pg$, $-CH_2-NPg_1Pg_2$, $-CH_2-NMePg_1$, $-CH_2-NHCH_3$, $-CH_2-NH_2$, $-CO-N(CH_3)_2$, $-CH(A^1R^{12})(A^1R^{13})$, $-(A^1R^{14})(A^2R^{15})(A^3R^{16})$, $-COOR^{17}$, $-CH_2-CO-NH_2$, $-CH=CH-R^{18}$

182

o $-\text{CONHR}^{19}$, donde Pg es un grupo protector para un grupo alcohol, Pg_1 y Pg_2 son grupos protectores para un grupo amino, R^{12} y R^{13} se seleccionan independientemente de alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} y grupos alquilo, arilo o aralquilo opcionalmente sustituidos o R^{12} y R^{13} forman juntos una cadena de 2 a 4 átomos de carbono, cada uno de R^{14} - R^{18} se seleccionan independientemente de alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{1-6} y alquilarilo C_{1-6} o aril-alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido, R^{19} es hidrógeno o metilo y A^1 , A^2 y A^3 son seleccionados de O y S; L es un grupo saliente, tal como halógeno o $-\text{O}-\text{SO}_2-$ A donde A es alquilo C_{1-6} , alquenilo C_{2-6} , alquinilo C_{2-6} o alquilarilo C_{1-6} o arilo-alquilo C_{1-6} opcionalmente sustituido.

En una realización de la invención Z es dimetilaminometilo, $-\text{CH}_2\text{-L}$, $-\text{CH}_2\text{-NPg}_1\text{Pg}_2$, $-\text{CH}_2\text{-NMePg}_1$, $-\text{CH}_2\text{-NHCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{-NH}_2$, $-\text{CO-N}(\text{CH}_3)_2$, aldehído $-\text{COOR}^{17}$ en los compuestos de fórmula (II), (IIa), (IIr), (IV) (IVa) (IVr) y (V).

Los compuestos donde Z es $-\text{CH}_2\text{-O-Pg}$ pueden convertirse a los correspondientes compuestos donde Z es dimetilaminometilo por la remoción del grupo protector para formar el alcohol correspondiente y en adelante la conversión del grupo alcohol a un grupo saliente factible y la reacción del compuesto resultante con

- a) dimetilamina o una sal de la misma,
- b) metilamina seguido de metilación o aminación reductora, o
- c) con una azida seguido de reducción para formar la amina correspondiente y en adelante la metilación o aminación reductora, como se describe en el documento WO 01/43525, WO 01/51478 o WO 01/68631 o mediante métodos análogos.

Los compuestos donde Z es $-\text{CH}_2\text{-L}$, donde L es un grupo saliente, puede convertirse a un grupo dimetilaminometilo de la misma manera.

Los compuestos donde Z es $-\text{CO-N}(\text{CH}_3)_2$ y $-\text{CO-NHR}^{19}$, donde R^{19} es

hidrógeno o metilo, pueden convertirse a los compuestos correspondientes donde Z es dimetilaminometilo por la reducción de la amida y si una amina primaria o secundaria se forma, seguido de metilación o aminación reductora para formar un grupo dimetilaminometilo como se describió en el documento WO 01/43525 o WO 01/68631 o mediante métodos análogos.

Los compuestos donde Z es $-\text{CH}_2\text{-NMe(Pg}_1\text{)}$ o $-\text{CH}_2\text{-N(Pg}_1\text{)(Pg}_2\text{)}$ puede convertirse al compuesto correspondiente donde Z es dimetilaminometilo por la remoción de los grupos protectores, es decir para obtener los compuestos donde Z es $-\text{CH}_2\text{-NH}_2$ o $-\text{CH}_2\text{-NMe}$ y en adelante la metilación del grupo amino o aminación reductora para formar un grupo dimetilaminometilo como se describe en el documento WO 01/43525 o WO 01/68631 o mediante métodos análogos.

Los compuestos donde Z es $-\text{CH(A}^1\text{R}^{12}\text{)(A}^2\text{R}^{13}\text{)}$ puede convertirse a los correspondientes compuestos donde Z es dimetilaminometilo mediante desprotección para formar un aldehído (los compuestos donde Z es $-\text{CH}_2\text{-CA}^1\text{H}$) seguido de aminación reductora con dimetilamina para formar un grupo dimetilaminometilo como se describe en el documento WO 01/43525 o WO 01/68631 o mediante métodos análogos.

Los compuestos donde Z es $-\text{C(A}^1\text{R}^{14}\text{)(A}^2\text{R}^{15}\text{)(A}^3\text{R}^{16}\text{)}$ puede convertirse a los correspondientes compuestos donde Z es dimetilaminometilo

i) mediante hidrólisis para formar un ácido carboxílico o un éster del mismo y en adelante la reducción para formar un alcohol y en adelante la conversión del grupo de alcohol a un grupo saliente factible, seguido del reemplazo del grupo saliente con un grupo dimetilamino como se describe anteriormente, o

ii) la conversión del ácido carboxílico o un éster del mismo a una amida mediante la reacción con una amina de NH(Me)_2 , NH_2Me , NH_3 o una sal del mismo seguido de, en cualquier orden, la reducción de la amida si es necesario la metilación o aminación reductora para formar un grupo dimetilamino como se

describe en el documento WO 01/68631 o mediante métodos análogos.

Los compuestos donde Z es $-\text{COOR}^{17}$ pueden convertirse a los compuestos correspondientes donde Z es dimetilaminometilo como se describió anteriormente, partiendo con el éster de ácido carboxílico.

Los compuestos donde Z es $-\text{CH}_2\text{CONH}_2$ pueden convertirse al correspondiente compuesto donde Z es dimetilaminometilo mediante tratamiento con hipohaluro para formar una amina primaria seguida de metilación del grupo amino libre o aminación reductora para formar un grupo dimetilaminometilo como se describe en el documento WO 01/43525 o WO 01/68631 o mediante métodos análogos.

Los compuestos donde Z es $-\text{CH}=\text{CHR}^{18}$ pueden convertirse al correspondiente compuesto donde Z es dimetilaminometilo mediante oxidación para formar un aldehído que puede convertirse a dimetilaminometilo mediante aminación reductora como se describe en el documento WO 01/43525 o WO 01/68631 o mediante métodos análogos.

Los compuestos donde Z es ciano o $-\text{CH}_2\text{NO}_2$ pueden convertirse al correspondiente compuesto donde Z es dimetilaminometilo mediante reducción seguido de metilación o aminación reductora del grupo amino libre constituido para formar dimetilaminometilo como se describe en el documento WO 01/68629 o mediante métodos análogos.

Los compuestos donde Z es $-\text{MgHal}$ pueden convertirse al correspondiente compuesto donde Z es dimetilaminometilo mediante reacción con éter de dimetilaminometilo alquilo de fórmula $(\text{CH}_3)_2\text{NCH}_2\text{O}$ -alquilo como se describe en el documento WO 01/68629 o mediante métodos análogos.

Preferentemente, Z es dimetilaminometilo. Si Z no es dimetilaminometilo, la conversión de Z a un grupo dimetilaminometilo se lleva a cabo de manera conveniente después del cierre del anillo.

Convenientemente, Z es dimetilaminometilo, $-\text{CH}_2\text{L}$, $-\text{CH}_2\text{NPg}_1\text{Pg}_2$, $-\text{CH}_2\text{NMePg}_1$, $-\text{CH}_2\text{NHCH}_3$, $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, aldehido, $-\text{CO-N}(\text{CH}_3)_2$, $-\text{COOR}^{17}$ cuando la línea punteada representa un enlace.

Los compuestos de fórmula (II) o (IV) donde Z es dimetilaminometilo, $\text{CH}_2\text{NPg}_1\text{Pg}_2$, $-\text{CH}_2\text{NMePg}_1$, $-\text{CH}_2\text{NHCH}_3$, o $-\text{CH}_2\text{NH}_2$, en particular los compuestos donde Z es dimetilaminometilo, $-\text{CH}_2\text{NHCH}_3$, o $-\text{CH}_2\text{NH}_2$ son particularmente adecuados para el método de aislamiento por purificación de acuerdo con la invención, donde los compuestos de fórmula (II) y (IV) se separaron.

En los compuestos de fórmula (II), (IIs), (IIr), (IV) (IVs) (IVr) y (V), la línea punteada es preferentemente un enlace simple. Los compuestos donde la línea punteada representa un enlace doble pueden convertirse al compuesto correspondiente donde la línea punteada es un enlace simple mediante los métodos descritos en el documento WO 01/68630. Preferentemente, la reducción se lleva a cabo después del cierre del anillo.

El cierre de anillo enantioselectivo de los compuestos de fórmula (IVs) o (IIs) para formar los compuestos de fórmula (V) puede llevarse a cabo apropiadamente por tratamiento de un derivado de éster lábil del compuesto con una base como $\text{KOC}(\text{CH}_3)_3$ y otros alcóxidos, NaH y otros hidruros, trietilamina, etildiisopropilamina o piridina, a bajas temperaturas en un solvente orgánico inerte, como tetrahidrofurano, tolueno, DMSO, DMF, éster metilbútilico terciario, dimetoxietano, dimetoximetano, dioxano, acetonitrilo o diclorometano. Este proceso se describe en la patente de los Estados Unidos de América N° 4.943.590.

El cierre de anillo del compuesto de fórmula (IIs) se lleva a cabo apropiadamente por tratamiento con una base tal como se describió con anterioridad en presencia de un agente capaz de formar un grupo lábil con el alcohol primario del diol, como metansulfoniloxi, *p*-toluensulfoniloxi, 10-

alcanforsulfoniloxi, trifluoroacetiloxi y trifluorometansulfoniloxi y halógeno.

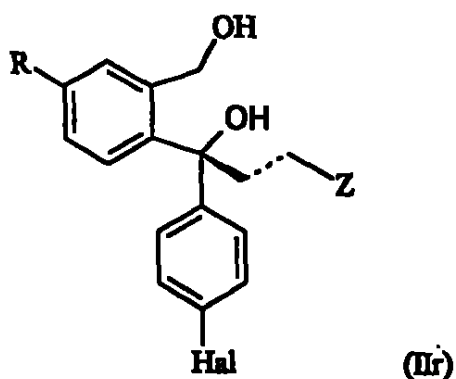
En algunos casos, puede resultar ventajoso intercambiar el grupo $-W-R^3$ en el compuesto de fórmula (IVs) con un grupo más lábil antes de llevar a cabo el cierre de anillo. Tales grupos lábiles (grupos salientes) podrían ser normalmente un grupo seleccionado de metansulfoniloxi, *p*-toluensulfoniloxi, 10-alcanforsulfoniloxi, trifluoroacetiloxi y trifluorometansulfoniloxi o halógeno.

Normalmente, el compuesto de fórmula (IVs) se somete a hidrólisis para formar el compuesto de fórmula (IIs) con base acuosa como NaOH, KOH o LiOH en agua o alcohol o una mezcla de ellos y luego se hace reaccionar con un grupo saliente activado como, por ejemplo, cloruro de mesilo o cloruro de tosilo en un solvente orgánico en presencia de una base orgánica.

La pureza óptica del producto de escitalopram podría mejorarse luego del cierre de anillo. La mejora de la pureza óptica puede obtenerse por cromatografía en una fase quiral estacionaria o por cristalización de una base de citalopram racémico o una sal de ella de acuerdo con los métodos descritos en el documento WO 03/000672.

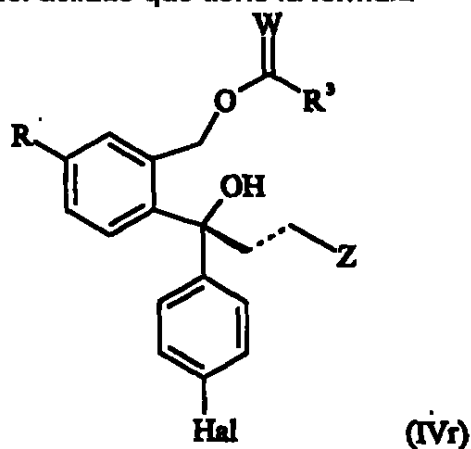
El enantiómero R de los compuestos de fórmula (II) y (IV) obtenido de acuerdo con la invención puede usarse para preparar citalopram y escitalopram racémicos por cierre de anillo en un ambiente ácido de acuerdo con el método descrito en el documento WO 03/000672. Los ácidos apropiados para llevar a cabo el cierre de anillo ácido son un ácido mineral, un ácido carboxílico, un ácido sulfónico o un derivado de ácido sulfónico, más apropiadamente, H_2SO_4 o H_3PO_4 .

De esta manera, en otra realización, la invención se refiere a un proceso para preparar citalopram y/o escitalopram racémico o una sal del mismo de aceptación farmacéutica que comprende la preparación del enantiómero R de un diol que tiene la fórmula



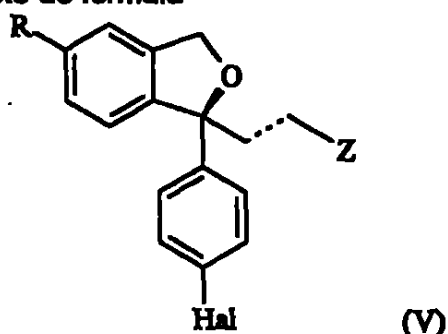
donde R es ciano o un grupo que puede convertirse en un grupo ciano, la línea punteada representa un enlace opcional y Z es un grupo dimetilaminometilo o un grupo que puede convertirse en un grupo dimetilaminometilo y Hal es halógeno, o una sal del mismo,

o el enantiómero R de un diol acilado que tiene la fórmula



donde R, Z, la línea punteada y Hal son como se definieron con anterioridad, W es O o S, y R^3 es $-Y-R^1$, donde R^1 es alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} o alquinilo C_{2-10} , todos los cuales todos los cuales pueden ser opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} , di-(alquil C_{1-10})amino, arilo, ariloxi, ariltio y heteroarilo, o R^1 es arilo, donde cualquiera de los grupos arilo y heteroarilo puede estar opcionalmente mono o polisustituido con sustituyentes seleccionados de entre alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , alcoxi C_{1-10} ,

alquiltio C₁₋₁₀, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₁₀ y di-(alquil C₁₋₁₀)amino e Y es un enlace, O, S o NH, o una sal del mismo, en una realización mediante el método para la acilación enzimática selectiva de acuerdo con la invención tal como se definió en cualquiera de las realizaciones anteriores y en otra realización mediante el método para la desacilación enzimática selectiva de acuerdo con la invención tal como se definió en cualquiera de las realizaciones anteriores, opcionalmente seguida de la conversión, en cualquier orden, del grupo R en un grupo ciano, la reducción de un doble enlace representado por la línea punteada a un enlace simple, la conversión del grupo Z a un grupo dimetilaminometilo y/o la conversión del grupo Hal a un grupo flúor y el cierre de anillo en condiciones ácidas del enantiómero R de fórmula (IIr) o (IVs) para formar una mezcla del compuesto de fórmula



donde Hal, Z, R y la línea punteada son tal como se definieron con anterioridad, y una cantidad menor del correspondiente enantiómero R, seguido de, en cualquier orden, si R no es ciano, la conversión del grupo R en un grupo ciano, si la línea punteada representa un enlace doble, la reducción a un enlace simple, si Z no es dimetilaminometilo, la conversión del grupo Z en un grupo dimetilaminometilo y si Hal no es flúor, la conversión de Hal en un grupo flúor, seguido de aislamiento de escitalopram y/o citalopram racémico o una sal de aceptación farmacéutica del mismo, por precipitación de una base libre de citalopram racémico o una sal del mismo y recuperación de escitalopram del agua madre de la precipitación.

139
80

De modo apropiado, el método anterior para convertir el R-diol en escitalopram se usa para preparar escitalopram.

La conversión del grupo R en un grupo ciano, la reducción de un enlace doble representado por la línea punteada a un enlace simple, la conversión del grupo Z en un grupo dimetilaminometilo y la conversión de Hal en un grupo flúor puede llevarse a cabo tal como se describió con anterioridad.

De acuerdo con una realización del método anterior para preparar escitalopram, la mezcla del enantiómero R o S de un compuesto de fórmula (II) y el enantiómero opuesto del compuesto de fórmula (IV) obtenido por acilación enzimática se separaron entre sí por un proceso de aislamiento y purificación de acuerdo con uno de los métodos de aislamiento y purificación anteriores. De acuerdo con otra realización, la mezcla se separó por los métodos de aislamiento y purificación anteriores.

De acuerdo con otra realización más del método anterior para preparar escitalopram, la mezcla del enantiómero R o S de un compuesto de fórmula (II) y el enantiómero opuesto del compuesto de fórmula (IV) obtenido por desacilación enzimática se separaron entre sí por el proceso de aislamiento y purificación de acuerdo con los métodos anteriores de aislamiento y purificación. De acuerdo con otra realización, la mezcla se separó por métodos de aislamiento y purificación.

De acuerdo con otra realización de la invención, el enantiómero S de fórmula (IIr) anterior o el enantiómero S de fórmula (IVr) usado para preparar el escitalopram no se separa del enantiómero R de fórmula (IV) y (II) respectivamente, antes del cierre de anillo.

La pureza óptica del producto de escitalopram podría mejorarse luego del cierre de anillo. La mejora de la pureza óptica puede obtenerse por cromatografía en una fase quiral estacionaria o por cristalización de una base de citalopram racémico o una sal del mismo de acuerdo con los métodos descritos en el

documento WO 03/000672.

Tal como se usa en la presente, el término alquilo de C_{1-10} se refiere a un grupo alquilo ramificado o no ramificado que tiene de uno a diez átomos de carbono inclusive, como metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, 1-butilo, 2-butilo, 2-metil-2-propilo, 2-metil-1-propilo, pentilo, hexilo y heptilo. El alquilo C_{1-6} se refiere a un grupo alquilo ramificado o no ramificado que tiene de uno a seis átomos de carbono inclusive, como metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, 1-butilo, 2-butilo, 2-metil-2-propilo, 2-metil-1-propilo, pentilo y hexilo. El alquilo C_{1-4} se refiere a un grupo alquilo ramificado o no ramificado que tiene de uno a cuatro átomos de carbono inclusive, como metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo, 1-butilo, 2-butilo, 2-metil-2-propilo y 2-metil-1-propilo. El alquilo C_{1-3} se refiere a un grupo alquilo ramificado o no ramificado que tiene de uno a tres átomos de carbono inclusive, como metilo, etilo, 1-propilo, 2-propilo.

De modo similar, alquenilo C_{2-10} y alquinilo C_{2-10} designan grupos alquenilo y alquinilo ramificados o no ramificados, respectivamente, que tienen de dos a diez átomos de carbono, incluyendo un enlace doble y un enlace triple respectivamente, como etenilo, propenilo, butenilo, etinilo, propinilo y butinilo. El alquenilo C_{2-6} y el alquinilo C_{2-6} designan grupos alquenilo y alquinilo ramificados o no ramificados, respectivamente, que tienen de dos a seis átomos de carbono, incluyendo un enlace doble y un enlace triple respectivamente, como etenilo, propenilo, butenilo, etinilo, propinilo y butinilo. El alquenilo C_{2-4} y el alquinilo C_{2-4} designan grupos alquenilo y alquinilo ramificados o no ramificados, respectivamente, que tienen de dos a cuatro átomos de carbono, incluyendo un enlace doble y un enlace triple respectivamente, como etenilo, propenilo, butenilo, etinilo, propinilo y butinilo. El alquenilo C_{2-3} y el alquinilo C_{2-3} designan grupos alquenilo y alquinilo ramificados o no ramificados, respectivamente, que tienen de dos a tres átomos de carbono, incluyendo un enlace doble y un enlace triple

respectivamente, como etenilo, propenilo, etinilo y propinilo.

Los términos alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , alquilamino C_{1-10} y di-(alquil C_{1-10})amino etc. designan aquellos grupos en los cuales el grupo alquilo es alquilo C_{1-10} como se definió con anterioridad. Los términos alcoxi C_{1-8} , alquiltio C_{1-8} , alquilamino C_{1-8} y di-(alquil C_{1-8})amino etc. designan aquellos grupos en los cuales el grupo alquilo es alquilo C_{1-8} tal como se definió con anterioridad. Los términos alcoxi C_{1-4} , alquiltio C_{1-4} , alquilamino C_{1-4} y di-(alquil C_{1-4})amino etc. designan aquellos grupos en los cuales el grupo alquilo es alquilo de C_{1-4} tal como se definió con anterioridad. Los términos alcoxi C_{1-3} , alquiltio C_{1-3} , alquilamino C_{1-3} y di-(alquil C_{1-3})amino etc. designan aquellos grupos en los cuales el grupo alquilo es alquilo C_{1-3} tal como se definió con anterioridad.

Halógeno significa flúor, cloro, bromo o yodo.

El término arilo se refiere a un grupo aromático carbocíclico mono o bicíclico, como fenilo, o naftilo, en particular, fenilo.

Ariloxi, ariltio se refiere a un grupo donde el arilo es tal como se definió con anterioridad.

El término heteroarilo se refiere a un grupo heteroaromático monocíclico de 5 ó 6 miembros o un grupo heteroaromático bicíclico. El grupo heteroarilo apropiado contiene 1-3 heteroátomos seleccionados de O, S y N.

R^0 y R^1 pueden formar juntos una cadena de 3 a 5 átomos de carbono, formando así un anhídrido.

Cuando Z es $-CH_2-N(R'R'')$, donde R' y R'' están conectados entre sí para formar una estructura cíclica incluyendo el átomo de N al que están unidos, la estructura cíclica forma grupos tales como los que incluyen piperidina, pirrolidina, morfolinilo y piperazinilo.

HOBt significa hidroxibenzotriazol y pfp significa pentafluorofenol.

Sección experimental

En los siguientes ejemplos, el % de conversión y la pureza óptica se midieron y calcularon tal como se describe a continuación:

Condición de análisis por HPLC (para el índice de conversión) usada para los ejemplos 1–28:

Columna: YMC–Pack ODS–A 0,46 cm I.D. x 25 cm (fabricada por YMC Co., LTD.)

Eluyente: 25 mM buffer de fosfato / acetonitrilo = 60 / 40

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Temperatura: 40°C

Detector de longitud de onda: 237 nm

Condición de análisis por HPLC (para el índice de conversión) usada para los ejemplos 29–42:

Columna: una columna Lichrosfer RP–8, 250 x 4 mm (5 µm de tamaño de partícula)

Eluyente: MeOH/agua regulado preparado de la siguiente manera: 1,1 ml de Et₃N adicionados a 150 ml de agua, 10 % de H₃PO₄ (ac.) se agrega a pH = 7 y se adiciona agua hasta un total de 200 ml. La mezcla se agrega a 1,8 L de MeOH.

Temperatura: 35°C

Velocidad de flujo: 1 ml/min

Presión: 16,0 MPa

Detección: UV 254 nm

Volumen de inyección: 10 microl

Velocidad de conversión (%) = $P/(S+P) \times 100$, (P: cantidad de producto, S: cantidad de sustrato residual).

Condición de análisis por HPLC (para la pureza óptica) usada para los ejemplos 1–28:

Columna: Chiralpak AD 0,46 cm I.D. x 25 cm (fabricada por DAICEL

CHEMICAL INDUSTRIES, LTD.)

Eluyente: Heptano / metanol / etanol / dietilamina = 85 / 7,5 / 7,5 / 0,1

Velocidad de flujo: 1,0 ml/min

Temperatura: 30°C

Detector de longitud de onda: 240 nm

Velocidad de conversión (%) = $P/(S+P) \times 100$, (P: cantidad de producto, S: cantidad de sustrato residual)

Cromatografía líquida supercrítica. Condición de análisis (para la pureza óptica) usada para los ejemplos 29–42:

Columna: columna Daicel AD con las dimensiones 250 x 4,6 mm (5 µm de tamaño de partícula)

Fase móvil: dióxido de carbono

Modificador: Metanol con dietilamina (0,5 %) y ácido trifluoroacético (0,5 %).

Gradiente del modificador: 1–2 % en 4 minutos

2–4 % en 4 minutos

4–8 % en 4 minutos

8–16 % en 4 minutos

16–32 % en 4 minutos

32–45 % en 1,62 minutos

Temperatura: temperatura ambiente

Velocidad de flujo: 2 ml/min

Presión: 20 mPa

Detección: UV 230 nm y 254 nm

Volumen de inyección: 10 microl

Pureza óptica (% ee) = $(A-B) / (A+B) \times 100$, (A y B representan al correspondiente estereoisómero, A>B)

$$\text{Valor } E = E_n ((1-c/100) \times (1-E_s/100)) / E_n ((1-c/100) \times (1+E_s/100))$$

(c: relación de conversión, Es: pureza óptica del sustrato óptico)

Ejemplo 1

4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitrilo

Se agregaron agua (200,7 g) y tolueno (440,8 g) a ($\pm$)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo, 1/2 sal de ácido sulfúrico (100,4 g, 0,257 mol), luego se agitó durante 15 minutos y la temperatura de la mezcla se elevó hasta 60° C. A continuación, se agregó por goteo 30 % de NaOH (34,5 g, 0,259 mol) durante 5 minutos hasta que el pH de la capa acuosa alcanzó un valor de 11,4, y se agitó durante 30 minutos. Luego de agitar, la mezcla se dejó reposar durante 5 minutos, y se separó. Se descartó la capa acuosa, y la capa orgánica obtenida de esa manera se lavó con 220,0 g de agua y luego se concentró a presión reducida a 60° C para eliminar la humedad restante. La concentración se ajustó agregando tolueno, a fin de obtener 583,1 g de una solución de 4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo en tolueno (contenido de 4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo puro: 87,6 g, rendimiento: 99,7 %, 0,256 mol). Después se vertieron 52,5 g de tolueno en 17,5 g de una enzima inmovilizada (Novozym 435), luego se agregaron 583,1 g de la solución de 4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo en tolueno, y la temperatura de la mezcla se controló a 40° C. A continuación, se adicionó una solución mixta que contenía ácido pivalico (28,7 g, 0,281 mol) butirato de vinilo (29,2 gm 0,256 mol) y tolueno (28,8 g) en la mezcla anterior durante 20 minutos, y la mezcla se agitó a 40° C durante 12 horas en una ligera corriente de nitrógeno. Tras enfriar la mezcla durante 2 horas hasta llegar a 20° C, la mezcla se agitó durante 1 hora a la misma temperatura y se detuvo la agitación. Se filtró la enzima y luego la enzima se lavó dos veces con 105 g de tolueno, y

estas capas de tolueno se combinaron. La capa de tolueno contenía 583,1 g de una solución de 4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo en tolueno (contenido de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo puro: 36,0 g, rendimiento a través del proceso de resolución enzimática: 41,1 %, 0,105 mol).

Una solución mixta que contenía el sobrenadante y el líquido de lavado se extrajo tres veces con agua (438 g, 263 g x 2), y se lavaron 1005,4 g de la capa acuosa obtenida con 79 g de tolueno cinco veces. Como resultado, se obtuvieron 985,2 g de una solución acuosa de sal de ácido de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril pivalico (contenido de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo puro: 32,6 g, rendimiento (a través del proceso de extracción con agua al lavado con tolueno): 90,6 %, 0,0952 mol). A los 985,2 g de una solución acuosa de sal de ácido de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril pivalico obtenida de esta manera, se agregaron 218,2 g de tolueno. A continuación, se adicionó lentamente 30 % de NaOH (13,3 g, 0,0998 mol) a la mezcla agitando, hasta que el pH de la capa acuosa alcanzó 11,9, y la mezcla se mantuvo agitada durante 30 minutos. Luego de agitar, la mezcla se dejó reposar durante 30 minutos y se separó la capa de tolueno, y la capa acuosa restante se extrajo nuevamente con 142,5 g de tolueno. La capa de tolueno combinada se lavó dos veces con 169,0 g de agua, se concentró a 60° C a presión reducida, a fin de obtener 64,0 g de una solución de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo en tolueno. Dicha solución de tolueno contenía 32,0 g (0,0935 mol) de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo. El rendimiento general fue del 36,4 %. La pureza óptica determinada por HPLC fue del 98,7 % ee, y la pureza química fue del 99,9 % en área, butirato de ((R)-5-

ciano-2- [dimetilamino- (4'-fluorofenil)-hidroxibutil]bencilo: 0,04 % en área.

En el sistema anterior, la anterior "pureza química" está representada por la siguiente ecuación.

(Pureza química) = [Valor del área de 4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo] / [(Valor del. área de todos los compuestos detectados) - (Valor del área de tolueno) - (Valor del área derivado del sistema)] x 100 (% en área)

Ejemplo 2

Un tubo de ensayo equipado con tapón se cargó con 50 mg (0,146 mmol) de (±)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo, 25 mg de varias clases de lipasas, 33 mg (0,29 mmol) de butirato de vinilo y 1 ml de tolueno, y se agitó a 40° C durante 16 horas. Se calcularon los valores E para el sustrato con una pureza óptica de al menos el 50 % ee. Los resultados se indican en la tabla 1.

Enzimas	Origen	Conversión	Pureza óptica	Configuración	Valor E
		(%)	(%e.e.)		
Liporina TL 1M (fabricado por Novozymes A. <i>Thermomyces lanuginosus</i>)		97.8	62.7	(R)	1
Novozym 435 (fabricado por Novozymes A/S <i>Candida antarctica</i>)		59.7	96.4	(S)	18
Ninguno		1.16			

Tabla 1

Ejemplo 3

Un tubo de ensayo equipado con un tapón se cargó con 10 a 100 mg (0,029 a 0,29 mmol) de (±)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo, 10 a 100 mg de Novozym 435 (producto de Novozymes, relación E/S = 1,0), 33 a 333 mg (10 eq.) de butirato de vinilo y 1 ml de tolueno, y se agitó a 30° C durante 16 horas. Los resultados se indican en la tabla 2.

Concentración	Conversión	Pureza óptica	Configuración	Valor E
(%)	(%)	(%e.e.)		
1	52.9	93.7	(S)	38
2	54.2	88.6	(S)	20
5	63.1	87.9	(S)	9
10	65.0	92.6	(S)	9

Tabla 2

Ejemplo 4

Un tubo de ensayo equipado con un tapón se cargó con 100 mg (0,292 mmol) de (±)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitrilo, 50 mg de Novozym 435 (producto de Novozymes), 333 mg (2,92 mmol) de butirato de vinilo, 0,292 mmol de varias clases de aditivos y 1 ml de tolueno, y se agitó a la temperatura de 40° C durante 16 horas. Los resultados se indican en la tabla 3.

Aditivo	Conversión	Pureza óptica	Configuración	Valor E
	(%)	(%e.e.)		
Ácido sulfúrico	39.8	14.7	(S)	2
Ácido acético	34.4	46.0	(S)	24
Ácido clorhídrico	27.1	16.2	(S)	3
Ácido benzoico	62.9	98.2	(S)	16
Trietilamina	74.8	99.7	(S)	11
Piridina	65.4	96.5	(S)	11
Ácido benzoico □ Atrietilamin	66.0	92.0	(S)	8
Ácido benzoico □ Apiridina	58.1	97.3	(S)	23
Ninguno	73.5	97.4	(S)	8

Tabla 3

Ejemplo 5

En un matraz de cuatro bocas de 200 ml equipado con un agitador y un termómetro, se disolvieron 1,5 g (4,38 mmol) de (±)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo en 30 ml de tolueno, luego se agregaron 0,45 g de Novozym 435 (producto de Novozymes), 0,347 g (4,38 mmol) de piridina, 4,38 mmol de varios tipos de ácidos y 1,00 g (8,76 mmol) de butirato de vinilo, y se agitó a 40° C durante 16 a 21,5 horas. El resultado se indica en la tabla 4.

Ácido	Conversión (%)	Pieza óptica (%e.e.)	Configuración	Valor E
Ácido salicílico	54.7	95.9	(S)	33
Ácido p-etilbenzoico	64.9	97.5	(S)	13
Ácido o-toluico	64.5	97.3	(S)	13
Ácido m-toluico	66.3	96.6	(S)	11
Ácido p-toluico	55.4	98.9	(S)	44
Ácido o-anísico	59.3	94.9	(S)	17
Ácido 4-clorofenilacético	59.5	96.3	(S)	18
Ácido 3-fenilpropiónico	46.2	74.4	(S)	31
Ácido 1-naftoico	67.8	83.3	(S)	6
Ácido benzoico	59.7	99.9	(S)	37
Ácido butírico	53.7	89.6	(S)	24
Ácido isobutírico	61.8	97.1	(S)	16
Ácido isovalérico	55.3	94.8	(S)	27
Ácido pivalico	58.2	97.8	(S)	25
Ácido caproico	60.3	96.1	(S)	17
Ácido ciclohexanocarboxílico	55.2	95.4	(S)	30
Ninguno	59.1	95.5	(S)	18

Tabla 4

Ejemplo 6

En un matraz de cuatro bocas de 200 ml equipado con un agitador y un termómetro, se disolvieron 3,0 g (8,76 mmol) de (±)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-

199/90

fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroxi metilbenzonitrilo en 30 ml de tolueno, luego se agregaron 0,9 g de Novozym 435 (producto de Novozymes), 0,693 g (8,76 mmol) de piridina, 8,76 mmol de varios tipos de ácidos y 2,00 g (17,52 mmol) de butirato de vinilo, y se agitó a 40° C durante 15,5 a 16,5 horas. Los resultados se indican en la tabla 5.

Ácido	Tiempo de reacción (hrs)	Conversión (%)	Pureza óptica (%e.e.)	Configuración	Valor E
Ácido o-toluico	16.5	59.8	97.9	(S)	21
Ácido p-toluico	19.5	35.8	29.8	(S)	4
Ácido benzoico	17	25.6	28.4	(S)	14
Ácido piválico	15	62.4	99.6	(S)	23
Ácido ciclohexanocarboxílico	16.5	59.4	97.0	(S)	20

Tabla 5

Ejemplo 7

En un matraz de cuatro bocas de 200 ml equipado con un agitador y un termómetro, se disolvieron 4,5 g (13,1 mmol) de (±)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroxi metilbenzonitrilo en 30 ml de tolueno, luego se agregaron 0,90 g de Novozym 435 (producto de Novozymes), 2,68 g (26,2 mmol) de ácido piválico y 0,900 a 1,500 g (0,6 a 1,0 eq.) de butirato de vinilo, y se agitó a 40° C durante 24 horas. Los resultados se indican en la tabla 6.

equivalente de butirato de vini	Conversión (%)	Pureza óptica (%e.e.)	Configuración	Valor E
0.6	45.8	73.8	(S)	32
0.8	54.4	95.9	(S)	35
1.0	54.8	96.5	(S)	35

Tabla 6

Ejemplo 8

En un matraz separable de 500 ml equipado con un agitador y un

280

termómetro, se disolvieron 20,0 g (58,4 mmol) de (±)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo en 144 ml de tolueno, luego se agregaron ácido píválico (1,1 a 3 eq.), 4,0 g de Novozym 435 (producto de Novozymes) y 6,67 g (58,4 mmol) de butirato de vinilo, y se agitó a 40° C durante 20 a 24 horas en una corriente de nitrógeno (5 ml/min). Los resultados se indican en la tabla 7.

Equivalente de ácido píválico	Tiempo de reacción (hrs)	Conversión (%)	Pureza óptica (%e.e.)	Configuración	Valor E
0	21.5	70.7	98.0	(S)	9
1.1	21	59.9	98.2	(S)	21
1.5	20	58.0	98.0	(S)	26
2.0	21	56.9	98.0	(S)	31
3.0	24	55.2	97.3	(S)	35

Tabla 7

Ejemplo 9

Un tubo de ensayo equipado con un tapón se cargó con 10 mg (0,029 mmol) de (±)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo, 10 mg de Novozym 435 (producto de Novozymes), 0,29 mmol de varios tipos de donantes de acilo y 1 ml de éster diisopropílico, y se agitó a 30° C durante 16 horas. Se calcularon valores E para el sustrato con una pureza óptica de al menos 30 % ee. Los resultados se indican en la tabla 8.

Donor de acilo	Conversión (%)	Pureza óptica (%e.e.)	Configuración
Acetato de vinilo	55.0	35.9	(S)
Propionato de vinilo	46.8	53.9	(S)
Butirato de vinilo	66.3	98.3	(S)
Caproato de vinilo	4.6		
Caprato de vinilo	0.2		
Estearato de vinilo	0.0		
2-etilhexanoato de vinilo	0.0		
Pivalato de vinilo	0.0		
4-ter-butilbenzoato de vinilo	0.0		
Anhídrido n-butírico	69.0	76.7	(S)
Anhídrido iso-valérico	38.6	5.80	(S)
Anhídrido iso-butírico	32.5	3.30	(S)

Tabla 8

Ejemplo 10

Un tubo de ensayo equipado con un tapón se cargó con 10 mg (0,029 mmol) de (±)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroxi metilbenzonitrilo, 10 mg de Novozym 435 (producto de Novozymes), 33 mg (0,29 mmol) de butirato de vinilo y 1 ml de varios tipos de solventes, y se agitó a 30° C durante 16 horas. Después de la reacción, se analizaron las relaciones de conversión y las purezas ópticas y los valores E. Los resultados se indican en la tabla 9.

Solvente	Conversión (%)	Pureza óptica (%e.e.)	Configuración	Valor E
Éter metilbutilico terciario	59.3	91.8	(S)	14
1,4-dioxano	11.1			
Tetrahidrofurano	6.19			
Éter diisopropílico	66.3	98.3	(S)	13
Éter dietílico	59.7	95.8	(S)	17
Acetona	11.8			
Metilisobutilcetona	33.0			
Etanol	7.09			
Butanol	6.56			
Acetato de etilo	10.8			
Acetato de butilo	11.7			
Tolueno	52.9	93.7	(S)	38
Hexano	40.7			
Dicloroetano	13.8			
Acetonitrilo	25.5			
Dimetilformamida	5.83			
Dimetilsulfóxido	8.78			
Butirato de vinilo	57.0	95.0	(S)	22

Tabla 9

Ejemplo 11

Un matraz de cuatro bocas de 200 ml equipado con un agitador y un termómetro se cargó con 0,9 a 1,35 g (las relaciones E/S son de 0,2 a 0,3) de Novozym 435 (producto de Novozym). Se colocó en el matraz una solución de 4,5 g (13,1 mmol) de (±)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo en 30 ml de tolueno, 2,01 g de ácido pivalico (19,7 mmol), y 1,50 g (13,1 mmol) de butirato de vinilo, y se agitó a una temperatura de entre 35 y 45° C durante 21 horas. Después de la reacción, el líquido de reacción se separó por decantación, y la enzima residual se lavó con 30 ml de tolueno y se recuperó. La misma operación a la descrita con anterioridad excepto por el uso de

233

la enzima recuperada se repitió cuatro veces para llevar a cabo la reacción de reciclado. Las actividades enzimáticas se calcularon de acuerdo con la siguiente ecuación. Los resultados se indican en la tabla 10.

Actividad enzimática (U/g) = (Cantidad de producto preparado por minuto (μmol/min)) / (Peso de la enzima (g))

Lotes	Actividad enzimática (U/g)		
	35 °C (E/S=0.30)	40 °C (E/S=0.25)	45 °C (E/S=0.20)
1	8.61	12.75	17.37
2	10.31	12.93	17.70
3	9.75	12.50	15.48
4	9.39	12.16	15.06
5	9.01	11.14	13.10

Tabla 10

Ejemplo 12

Sal de ácido de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitril piválico

Un matraz de cuatro bocas equipado con un agitador y un termómetro se cargó con 66,6 g de una solución de 10,0 g (0,029 mol) de (±)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo en tolueno, y la temperatura de la misma se controló para que estuviera a 40° C. A continuación se agregaron 2,27 g (0,029 mol) de piridina, 2,98 g (0,029 mol) de ácido piválico, 3,35 g (0,029 mol) de butirato de vinilo y 2,0 g de una enzima inmovilizada (Novozym 435) en la mezcla anterior. La mezcla de reacción se agitó a 40° C durante 15 horas en una ligera corriente de nitrógeno y se detuvo la agitación. Se filtró la enzima de la mezcla de reacción con un embudo de Kiriama, y la enzima se lavó con 21,6 g de tolueno. Como resultado, se obtuvieron (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-

hidroximetilbenzonitrilo (3,6 g, 0,011 mol, rendimiento: 36,0 %, pureza óptica: 98,5 % ee), sal de ácido pivalico.

La capa de tolueno combinada se lavó tres veces con agua (50 ml, 30 ml, 30 ml) a 20°C , y se obtuvo una cpa acuosa que contenía (S)-4-[4-metilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo, sal del ácido pivalico (3,5 g, 0,011 mol, rendimiento por extracción: 95%),

Ejemplo 13

Sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitril pivalico

Un matraz de cuatro bocas equipado con un agitador y un termómetro se cargó con 66,7 g de una solución de 20,0 g (0,058 mol) de (±)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo en tolueno, y la temperatura de la misma se controló para que fuese de 40° C. A continuación se agregaron 5,93 g (0,058 mol) de ácido pivalico, 6,62 g (0,058 mol) de butirato de vinilo y 4,1 g de una enzima inmovilizada (Novozym 435) a la mezcla anterior. La mezcla de reacción se agitó a 40° C durante 18 horas en una ligera corriente de nitrógeno y se detuvo la agitación. Se filtró la enzima de la mezcla de reacción con un embudo de Kiriama, y la enzima se lavó con 41,3 g de tolueno. Como resultado, se obtuvieron 6,7 g (0,020 mol) de sal de ácido de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril pivalico en la solución de tolueno, con un rendimiento de 33,5 % y una pureza óptica de 99,7 %ee.

Ejemplo 14

Sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitrilciclohexancarboxílico

Un matraz de cuatro bocas equipado con un agitador y un termómetro se cargó con 250,0 g de una solución de 25,0 g (0,073 mol) de (±)-4-[4-

dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo en tolueno, y la temperatura de la misma se controló para que fuese de 40° C. A continuación se agregaron 5,77 g (0,073 mol) de piridina, 8,33 g (0,073 mol) de butirato de vinilo, 9,52 g (0,073 mol) de ácido ciclohexancarboxílico y 5,0 g de una enzima inmovilizada (Novozym 435) en la mezcla anterior. La mezcla de reacción se agitó a 40° C durante 17,5 horas en una ligera corriente de nitrógeno y se detuvo la agitación. Se filtró la enzima, y se lavó con 54,1 g de tolueno. Como resultado, se obtuvo una capa de tolueno que contenía (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo (8,6 g, 0,025 mol, rendimiento: 34,4 %, pureza óptica: 98,7 % ee), sal de ácido ciclohexancarboxílico.

La capa de tolueno combinada se lavó cinco veces con agua (187,5 ml x 5) a 20° C, y se obtuvo una capa acuosa que contenía (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo (7,6 g, 0,0221 mol, rendimiento por extracción: 89 %), sal de ácido ciclohexancarboxílico.

Ejemplo 15

Sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitril-o-toluico

Un matraz de cuatro bocas equipado con un agitador y un termómetro se cargó con 250,0 g de una solución de 25,0 g (0,073 mol) de (±)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo en tolueno, y la temperatura de la misma se controló para que fuese de 40° C. A continuación, se agregaron 5,77 g (0,073 mol) de piridina, 8,33 g (0,073 mol) de butirato de vinilo, 9,93 g (0,073 mol) de ácido o-toluico y 5,0 g de una enzima inmovilizada (Novozym 435) a la mezcla anterior. La mezcla de reacción se agitó a 40° C durante 21 horas en una ligera corriente de nitrógeno, y luego se detuvo la agitación. Se filtró la enzima de la mezcla de reacción con un embudo de

Kiriyama, y se lavó con 54,1 g de tolueno. Como resultado, se obtuvo una capa de tolueno que contenía (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo (9,7 g, 0,028 mol, rendimiento: 38,8 %, pureza óptica: 97,8 % ee), sal de ácido o-toluico.

La capa de tolueno combinada se lavó tres veces con agua (250 ml, 63 ml, 63 ml) a 60° C, y se obtuvo una capa acuosa que contenía (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo (7,8 g, 0,0228 mol, rendimiento por extracción: 80 %), sal de ácido o-toluico.

Ejemplo 16

Sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitrilisobutírico

Un matraz de cuatro bocas equipado con un agitador y un termómetro se cargó con 33,3 g de una solución de 10,0 g (0,029 mol) de (±)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo en tolueno, y la temperatura de la misma se controló para que fuese de 40° C. A continuación, se agregaron 2,29 g (0,029 mol) de piridina, 2,57 g (0,029 mol) de ácido iso-butírico, 3,33 g (0,029 mol) de butirato de vinilo y 2,0 g de una enzima inmovilizada (Novozym 435) a la mezcla anterior. La mezcla de reacción se agitó a 40° C durante 24 horas en una ligera corriente de nitrógeno y se detuvo la agitación. Se filtró la enzima de la mezcla de reacción con un embudo de Kiriyama y se lavó con 21,6 g de tolueno. Como resultado, se obtuvo una capa de tolueno que contenía (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo (3,8 g, 0,011 mol, rendimiento: 38,0 %, pureza óptica: 95,9 % ee), sal de ácido isobutírico.

Ejemplo 17

Sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitrilbenzoico

Un matraz de cuatro bocas equipado con un agitador y un termómetro se cargó con 250,0 g de una solución de 50,0 g (0,146 mol) de (±)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo en tolueno, y la temperatura de la misma se controló para que fuese de 40° C. A continuación, se agregaron 11,5 g (0,146 mol) de piridina, 33,2 g (0,291 mol) de butirato de vinilo, 17,8 g (0,146 mol) de ácido benzoico y 10,0 g de una enzima inmovilizada (Novozym 435) a la mezcla anterior. La mezcla de reacción se agitó a 40° C durante 20 horas en una ligera corriente de nitrógeno, y luego se detuvo la agitación. Se filtró la enzima de la mezcla de reacción con un embudo de Kiriama y se lavó con 108 g de tolueno. Como resultado, se obtuvo una capa de tolueno que contenía (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo (22,0 g, 0,064 mol, rendimiento: 44,0 %, pureza óptica: 99,0 % ee), sal de ácido benzoico.

La capa de tolueno combinada se lavó tres veces con agua (500 ml x 3) a 60° C, y se obtuvo una capa acuosa que contenía (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo (21,0 g, 0,0614 mol, rendimiento por extracción: 96 %), sal de ácido benzoico.

Los siguientes ejemplos 18 a 28 ilustran la separación del S-diol de la mezcla de reacción.

Ejemplo 18

Un tubo de ensayo equipado con un tapón se cargó con 4,3 mg (0,0126 mmol) de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo (compuesto A), 6,8 mg (0,0165 mmol) de butirato de (R)-5-ciano-2-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-bencilo (compuesto B), 1 ml de tolueno, 1 ml de agua, y 0,291 mmol de varios tipos de ácidos (en el caso de un ácido dibásico, se usan 0,146 mmol), y se agitó a 40° C durante 1 hora. El solvente mixto obtenido de esta manera se separó en una capa acuosa y

una capa de tolueno, y luego se midieron las concentraciones de compuesto A y B en cada capa. Los coeficientes de partición K_a o K_b se calculan de acuerdo con la siguiente ecuación. Los resultados se indican en la tabla 11.

$K_a = (\text{Concentración del compuesto A en capa acuosa}) / (\text{Concentración del compuesto A en capa de tolueno})$

$K_b = (\text{Concentración del compuesto B en capa acuosa}) / (\text{Concentración del compuesto B en capa de tolueno})$

705
209

Ácido	Coeficiente de partición		Ka/Kb
	Ka	Kb	
Ácido o-nitrobenzoico	30.7	0.45	68.3
Ácido m-nitrobenzoico	19.5	0.08	237
Ácido salicílico	13.0	0.06	212
Ácido p-hidroxibenzoico	70.8	0.31	226
Ácido o-clorobenzoico	22.8	0.30	76.7
Ácido m-clorobenzoico	4.98	0.04	122
Ácido p-clorobenzoico	7.01	0.06	123
Ácido p-fluorobenzoico	14.4	0.12	120
Ácido p-etilbenzoico	2.28	0.03	73.0
Ácido o-tolúico	9.11	0.05	172
Ácido m-tolúico	6.00	0.03	215
Ácido p-tolúico	5.97	0.02	249
Ácido o-metoxibenzoico	27.1	0.38	71.1
Ácido m-metoxibenzoico	9.23	0.07	136
Ácido p-metoxibenzoico	12.3	0.10	122
Ácido 4-bifenilcarbónico	0.87	0.04	24.9
Ácido 3-fenilpropiónico	5.67	0.02	229
Ácido benzoico	18.4	0.08	244
Ácido isobutírico	39.2	0.17	225
Ácido oisovalérico	24.4	0.10	241
Ácido pivalico	9.03	0.10	92.6
Ácido caproico	5.04	0.03	181
Ácido ciclohexanocarboxílico	3.89	0.03	168
Ácido fáltico	20.8	0.33	63.8
Ácido isofáltico	7.43	0.29	25.4
Ácido tereftálico	16.8	0.15	113
Ácido p-toluensulfónico	164	3.61	45.4
Ácido malónico	38.5	1.29	29.8
Ácido oxálico	1092	5.73	190
Ácido succínico	24.1	0.44	54.6
Ácido maleico	31.1	1.03	30.0
Ninguno	0.17	0.08	2.2

Tábla 11

Ejemplo 19

Sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitril piválico

Se filtró la enzima de la mezcla de reacción enzimática obtenida mediante el método de acuerdo con el ejemplo 1, y se lavó dos veces con tolueno. Los 1174,3 g obtenidos de esta manera de una solución de tolueno que contenía (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo (44,8 g, 0,131 mol), sal de ácido piválico se agregaron a 600,3 g de agua y se extrajeron. Posteriormente, una extracción doble con 359,7 g de agua dio como resultado 1375,9 g de una solución acuosa de sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril piválico. La solución acuosa contenía 43,8 g (0,128 mol, rendimiento: 97,8 %) de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo. Pureza óptica: 98,4 %ee, butirato de (R)-5-ciano-2-[dimetilamino-(4'-fluorofenil)-hidroxibutil]bencilo: 10,7 % de área.

Ejemplo 20

Sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitril piválico

A 12,6 g de una solución acuosa de sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril piválico (contenido de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo: 0,4 g, 1,168 mmol), que se obtuvo por separado de acuerdo con el método del ejemplo 19, se agregaron 1,4 g (0,018 mol) de acetato de amonio. Luego se adicionó 1,0 g de tolueno y la mezcla se agitó durante 10 minutos. Tras reposar durante 30 minutos, la capa orgánica se descartó separando la solución de mezcla, y se obtuvo una capa acuosa que contenía sal de ácido (S)-4-[4-

dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril piválico (0,389 g, 1,136 mmol, rendimiento: 97,3 %). Por análisis de HPLC se halló que la pureza química era de 97,3 % en área y que contenía butirato de (R)-5-ciano-2-[dimetilamino- (4'-fluorofenil)-hidroxibutil] bencilo: 1,5 % en área.

Ejemplo 21

Sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitril piválico

A 12,6 g de una solución acuosa de sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril piválico (contenido de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo: 0,4 g, 1,168 mmol), que se obtuvo por separado de acuerdo con el método del ejemplo 19, se adicionaron 1,4 g (0,013 mol) de sulfato de litio. Luego se agregó 1,0 g de tolueno y la mezcla se agitó durante 10 minutos. Tras reposar durante 30 minutos, la capa orgánica se descartó separando la solución de mezcla, y se obtuvo una capa acuosa que contenía sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril piválico (0,394 g, 1,151 mmol, rendimiento: 98,5 %). Por análisis de HPLC se halló que la pureza química era de 93,7 % en área y contenía butirato de (R)-5-ciano-2-[dimetilamino- (4'-fluorofenil)-hidroxibutil] bencilo: 5,5 % en área.

Ejemplo 22

Sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitril piválico

A 12,6 g de una solución acuosa de sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril piválico (contenido de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo: 0,4 g, 1,168 mmol), que se obtuvo por separado de acuerdo con el método del ejemplo 19, se agregaron 1,4 g (0,011 mol) de sulfato de amonio. Posteriormente

se adicionó 1,0 g de tolueno y la mezcla se agitó durante 10 minutos. Tras reposar durante 30 minutos, la capa orgánica se descartó separando la solución de mezcla, y se obtuvo una capa acuosa que contenía sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril piválico (0,397 g, 1,159 mmol, rendimiento: 99,3 %). Por análisis de HPLC se halló que la pureza química era de 94,7 % en área y contenía butirato de (R)-5-ciano-2-[dimetilamino-(4'-fluorofenil)-hidroxibutil]bencilo: 4,5 % en área.

Ejemplo 23

Sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitril piválico

A 12,6 g de una solución acuosa de sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril piválico {contenido de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo: 0,4 g, 1,168 mmol}, que se obtuvo por separado de acuerdo con el método del ejemplo 19, se adicionaron 1,4 g (0,0099 mol) de sulfato de sodio. A continuación se agregó 1,0 g de tolueno y la mezcla se agitó durante 10 minutos. Tras reposar durante 30 minutos, la capa orgánica se descartó separando la solución de mezcla, y se obtuvo una capa acuosa que contenía sal de ácido de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril piválico (0,391 g, 1,142 mmol, rendimiento: 97,8 %). Por análisis de HPLC se halló que la pureza química era de 94,5 % en área y contenía butirato de (R)-5-ciano-2-[dimetilamino-(4'-fluorofenil)-hidroxibutil]bencilo: 4,7 % en área.

Ejemplo 24

Sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitril piválico

A 12,6 g de una solución acuosa de sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril piválico {contenido de (S)-

4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo:
0,4 g, 1,168 mmol}, que se obtuvo por separado de acuerdo con el método del ejemplo 19, se adicionaron 0,7 g (0,012 mol) de cloruro de sodio. A continuación se agregó 1,0 g de tolueno y la mezcla se agitó durante 10 minutos. Tras reposar durante 30 minutos, la capa orgánica se descartó separando la solución de mezcla, y se obtuvo una capa acuosa que contenía sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril pivalico (0,397 g, 1,159 mmol, rendimiento 99,3 %). Por análisis de HPLC se halló que la pureza química era de 93,3 % en área y contenía butirato de (R)-5-ciano-2-[dimetilamino-(4'-fluorofenil)-hidroxibutil]bencilo: 5,8 % en área.

Los ejemplos 20-24 comparados con el ejemplo 19 muestran que la separación mejoró con la adición de sales.

Ejemplo 25

Sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril pivalico

Se filtró la enzima de la mezcla de reacción enzimática obtenida mediante el método de acuerdo con el ejemplo 1, y se lavó dos veces con tolueno. Los 19,4 g obtenidos de esta manera de una solución de tolueno que contenía 1,0 g (2,92 mmol) de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilpivalico se ajustó de manera tal de estar a 40 °C y se agregaron 13 ml de agua a la solución y se extrajo. La solución se extrajo posteriormente dos veces con 7,5 ml de agua para obtener una solución de sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril pivalico. En la solución acuosa anterior, estaban contenidos 0,886 g (2,588 mmol, rendimiento: 88,6 %) de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo.

Ejemplo 26

Sal del ácido piválico (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitrilo

Se filtró la enzima de la mezcla de reacción enzimática obtenida mediante el método de acuerdo con el ejemplo 1, y se lavó dos veces con tolueno. Los 19,4 g obtenidos de esta manera de una solución de tolueno que contenía 1,0 g (2,920 mmol) de ácido piválico (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo de modo tal de estar a 40°C y se agregaron 11,6 ml de agua a la solución y se extrajo. La solución se extrajo posteriormente tres veces con 5,8 ml de agua para obtener una solución de sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril piválico. En la solución acuosa anterior, estaban contenidos 0,879 g (2,567 mmol, rendimiento 87,9 %) de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo.

Ejemplo 27

Sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitril piválico

Se filtró la enzima de la mezcla de reacción enzimática obtenida mediante el método de acuerdo con el ejemplo 1, y se lavó dos veces con tolueno. Los 10,4 g obtenidos de esta manera de la solución de tolueno que contenía 1,0 g (2,92 mmol) de ácido piválico (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo se agregaron a 13,0 ml de agua y se extrajo. La solución se extrajo posteriormente dos veces con 7,5 ml de agua para obtener una solución acuosa de sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-idroximetilbenzonitril piválico. En la solución acuosa anterior, estaban contenidos 0,954 g (2,786 mmol, rendimiento 95,4 %) de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo.

Ejemplo 28

Sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitril piválico

Se filtró la enzima de la mezcla de reacción enzimática obtenida mediante el método de acuerdo con el ejemplo 1, y se lavó dos veces con tolueno. Los 19,4 g obtenidos de esta manera de una solución de tolueno que contenía 1,0 g (2,90 mmol) de sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril piválico se agregaron a 0,43 g (4,210 mmol) de ácido piválico y la mezcla se extrajo con 13,0 ml de agua. La solución se extrajo posteriormente dos veces con 7,5 ml de agua para obtener una solución acuosa de sal de ácido (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitril piválico. En la solución acuosa anterior, estaban contenidos 0,947 g (2,766 mmol, rendimiento: 94,7 %) de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo.

Una comparación del ejemplo 25, 26, 27 y 28 indica que se obtiene una separación mejorada agregando ácido piválico, mientras que mayor cantidad de lavados y la regulación de la temperatura no ejercen mayor influencia sobre la separación.

Ejemplo 29

(S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitrilo

A una solución agitada de 4-[4-dimetilamino-1-(4-fluoro-fenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitrilo racémico (0,29 mmol, 100 mg) y vinilbutirato (3,9 mmol, 0,5 ml) en 1,4-dioxano anhidro (2,5 ml) se agregó lipoproteína lipasa de pseudomonas sp. (160 U, 5 mg). La reacción se calienta a 37 °C y es seguida por HPLC. Luego de 162 horas (a una conversión de 33,9 %) se filtra la enzima y se lava con una pequeña cantidad de 1,4-dioxano. Las fases orgánicas combinadas

se eváporan al vacío y posteriormente se analizan por cromatografía líquida supercrítica para obtener éster de (R)-butirato con 72 % ee y (S)-diol con 28 % ee.

Ejemplo 30

(S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitrilo

A una solución agitada de 4-[4-dimetilamino-1-(4-fluoro-fenil)-1-hidroxi-butil]-3-hidroximetil-benzonitrilo racémico (0,29 mmol, 100 mg) y vinilbutirato (0,58 mmol, 73,6 µl) en 1,4-dioxano anhidro (3,0 ml) se agregó lipoprotéina lipasa de pseudomonas sp. (160 U, 4 mg). La reacción se calienta a 37 °C y es seguida por HPLC. Luego de 194 horas a una conversión de 18,7 %, se filtra la enzima y se lava con una pequeña cantidad de 1,4-dioxano. Las fases orgánicas combinadas se evaporan al vacío y posteriormente se analizan por cromatografía líquida supercrítica para obtener éster de (R)-butirato con 92 % ee y (S)-diol con 14 % ee. La reacción también se monitoreó usando 1, 4 y 8 equivalentes de vinilbutirato tal como se indica en la tabla 12.

				Éster		Diol	
Entra	Vinilbutirato	Tiempo	Conversión	%	Confi-	%	Confi-
da		(h)	(%)	EE	guración	EE	guración
1	1 eq.	194	6,2 (0,5)	79	(R)	5	(S)
2	2 eq.	194	18,7 (1,0)	92	(R)	14	(S)
3	4 eq.	194	19,1 (2,0)	86	(R)	14	(S)
4	8 eq.	194	22,6 (4,0)	86	(R)	15	(S)

Tabla 12 (Los números entre paréntesis son la conversión sin enzima)

Ejemplo 31

(S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitrilo

A una solución agitada de 4-[4-dimetilamino-1-(4-fluoro-fenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitrilo racémico (0,29 mmol, 100 mg) y vinilbutirato (0,59 mmol, 75 µl) en 1,4-dioxano anhidro (2,925 ml) se agregó lipoproteína lipasa de pseudomonas sp. (160 U, 5 mg). La reacción se calienta a 50 °C y es seguida por HPLC. Luego de 165 horas a una conversión de 30,4 %, se filtra la enzima y se lava con una pequeña cantidad de 1,4-dioxano. Las fases orgánicas combinadas se evaporan al vacío y posteriormente se analizan por cromatografía líquida supercrítica para obtener éster de (R)-butirato con 98,1 % ee y (S)-diol con 30,3 % ee. La reacción también se monitoreó a 25, 37 y 65 °C tal como se indica en la tabla 13.

Entrada	Temperatura	Tiempo (h)	Conversión (%)	Éster		Diol	
				% EE	Configuración	% EE	Configuración
1	25°C	238	5,8 (0,5)	97,9	(R)	5,1	(S)
2	37°C	238	12,5 (1,4)	99,1	(R)	8,5	(S)
3	50°C	165	30,4 (1,9)	98,1	(R)	30,3	(S)
4	50°C	238	32,2 (3,0)	97,3	(R)	32,1	(S)
5	65°C	238	26,3 (7,6)	64,1	(R)	21,9	(S)

Tabla 13 (los número entre paréntesis son la conversión sin enzima)

Ejemplo 32

(S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-

benzonitrilo

A una solución agitada de 4-[4-dimetilamino-1-(4-fluoro-fenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitrilo racémico (0,29 mmol, 100 mg) y vinilbutirato (0,59 mmol, 75 µl, 2. eq.) en 1,4-dioxano anhidro (2,925 ml) se agregó lipoproteína lipasa de pseudomonas sp. (160 U, 4,5 mg). La reacción se calienta a 50 °C y es seguida por HPLC. Luego de 209 horas, se filtra la enzima y se lava con una pequeña cantidad de 1,4-dioxano. Las fases orgánicas combinadas se evaporan al vacío y posteriormente se analizan por cromatografía líquida supercrítica para obtener éster de (R)-butirato y (S)-diol. La reacción también se monitoreó con 200 mg, 500 mg y 1000 mg diol y respectivamente 150 µl, 375 µl y 750 µl de vinilbutirato y 2,85 ml, 2,625 ml y 2,25 ml de 1,4-dioxano tal como se indica en la tabla 14.

					Éster	Diol	
Entrada	Concentr.	Tiempo (h)	Conversión (%)	% EE	Configuración	% EE	Configuración
1	0,1 M	209	30,6 (2,6)	84,1	(R)	33,1	(S)
2	0,2 M	209	32,5 (4,9)	62,9	(R)	28,7	(S)
3	0,5 M	209	50,6 (29,6)	32,3	(R)	29,1	(S)
4	1,0 M	209	69,3 (66,3)	8,7	(R)	24,9	(S)

Tabla 14

Ejemplo 33

(S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitrilo

A una solución agitada de 4-[4-dimetilamino-1-(4-fluoro-fenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitrilo racémico (0,29 mmol, 100 mg) y vinilbutirato

7/6a
21a

(0,59 mmol, 75 μ l) en 1,4-dioxano anhidro (2,925 ml) se agregó lipoproteína lipasa de pseudomonas sp. (160 U, 4 mg). La reacción se calienta a 50 °C y es seguida por HPLC. Luego de 473 horas, se filtra la enzima y se lava con una pequeña cantidad de 1,4-dioxano. Las fases orgánicas combinadas se evaporan al vacío y posteriormente se analizan por HPLC. El resultado se indica en la tabla 15.

Entrada	Agua agregada % (p/p)	Tiempo (h)	Conversión (%)
1	0	473	33,9
2	0,1	473	20,1
3	1,0	473	0,1
4	10	473	0

Tabla 15

Ejemplo 34

(S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitrilo

A una solución agitada de 4-[4-dimetilamino-1-(4-fluoro-fenil)-1-hidroxi-butil]-3-hidroximetil-benzonitrilo racémico (2,9 mmol, 1000 mg) y vinilbutirato (5,9 mmol, 750 μ l) en 1,4-dioxano anhidro (14,25 ml) se agregó lipoproteína lipasa de pseudomonas sp. (160 U, 20 mg). La reacción se calienta a 50 °C y es seguida por HPLC. Luego de 139 horas, se agregan 5 mg de lipasa adicionales. Luego de 155 horas, se adicionan 15 mg más de lipasa. Luego de 399 horas, se recoge una muestra con una conversión de 55,7 %. La enzima se filtra y se lava con una pequeña cantidad de 1,4-dioxano. Las fases orgánicas combinadas se evaporan al vacío y posteriormente se analizan por cromatografía líquida supercrítica. Luego de 560 horas a una conversión de 62,8 %, se detiene la reacción. La enzima se filtra y se lava con una pequeña cantidad de 1,4-dioxano. Las fases

orgánicas combinadas se evaporan al vacío y posteriormente se analizan por cromatografía líquida supercrítica. Los valores obtenidos se indican en la tabla 16.

Entrada	Tiempo (hs)	Conversión n (%)	Éster		Diol	
			% EE	Config.	% EE	Config.
1	399	55,7	75,7	(R)	79,5	(S)
2	560	62,8	59,5	(R)	94,5	(S)

Tabla 16

Ejemplo 35

Análogos de (S)-citalopram diol

A una solución agitada de un análogo de citalopram diol racémico (0,29 mmol, 100 mg) y vinilbutirato (0,29 mmol, 37 µl) en 1,4-dioxano anhidro (2,925 ml) se agregó 4–10 mg PspLL. La reacción se calienta a 50 grados Celsius y es seguida por HPLC. Luego de detener la reacción, se filtra la enzima y se lava con una pequeña cantidad de tolueno. Las fases orgánicas combinadas se evaporan al vacío y posteriormente se analizan por cromatografía líquida supercrítica. El resultado se indica en la tabla 17.

Entrada	Análogo	Tiempo (h)	Conversión (%)	Éster		Diol	
				% EE	Conf	% EE	Conf
1	5-bromo	409	56,4 (8,9)	67,1	R	46,3	S

221

2	5-	456	20,5 (5,0)	11,7	R	20,5	S
	carboxa						
	mida						
3	5-yodo	143	28,0 (1,9)	98,9	R	29,9	S
4	5-cloro	244	30,5 (4,6)	54,7	R	24,3	S
5	5-	244	33,9 (8,3)	88,5	R	13,9	S
	formilo						

Tabla 17 (los número entre paréntesis son la conversión sin enzima)

Ejemplo 36

(S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxi-
butil]-3-hidroxi-
metil-benzonitrilo

A una solución agitada de 4-[4-dimetilamino-1-(4-fluoro-fenil)-1-hidroxi-
butil]-3-hidroxi-
metil-benzonitrilo racémico (29 mmol, 10 g) y vinilbutirato (58
mmol, 7,5 ml) en 1,4-dioxano anhidro (142,5 ml) se agregó lipoproteína lipasa de
pseudomonas sp. (160 U, 250 mg). La reacción se calienta a 50 °C y es seguida
por HPLC. Luego de 192 horas a una conversión de 41 %, se agregan 250 mg de
lipasa adicionales. Luego de 504 horas, se detuvo la reacción a una conversión
de 63 %. La enzima se filtra y se lava con una pequeña cantidad de 1,4-dioxano.
Las fases orgánicas combinadas se evaporan al vacío y posteriormente se
analizan por cromatografía líquida supercrítica. Valor EE obtenido ((S-diol) = 95
% (S-diol/R-diol = 40:1).

Ejemplo 37

Aislamiento de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxi-
butil]-3-hidroxi-
metil-benzonitrilo por cromatografía flash

Una mezcla de 372 mg de S-citalopram diol con valor ee 94,5 % y 628 mg
de butirato de R-citalopram diol con valor ee 59,5 % se disolvió en un mínimo de
acetato de etilo/heptano 4:1 con 4 % de trietilamina. El S-citalopram diol se aisló

usando cromatografía de flash en acetato de etilo/heptano 4:1 con 4 % trietilamina para obtener 120 mg de S-citalopram diol (valor ee 94,5 %).

Ejemplo 38

Aislamiento de (S)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetil-benzonitrilo por lavado de una mezcla con contenido de una base de S-diol

A una mezcla de S-citalopram diol y butirato de R-citalopram diol (0,3 g cada uno) se agregaron 24 ml de heptano y 66 ml de agua/metanol (2:1). La solución clara se transfirió a un embudo de separación y se recogió la fase orgánica. Se adicionaron 10 ml de heptano adicionales a la fase acuosa y se mezcló cuidadosamente. Se recogió la fase orgánica. La extracción se repitió 4 veces más. Las fases combinadas de heptano se extrajeron con 20 ml de agua/metanol (2:1) y las fases acuosas se combinaron y se evaporaron hasta la mitad del volumen y se extrajeron tres veces con 10 ml de acetato de etilo. Las fases combinadas de acetato de etilo se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se secaron al vacío para obtener 0,15 g S-citalopram diol que contenía 2 % de butirato de R-citalopram diol.

Ejemplo 39

Análogos de (S)-citalopram diol usando Novozymes 435

A una solución agitada de un análogo de citalopram diol racémico (0,29 mmol, 100 mg) y vinilbutirato (0,29 mmol, 37 µl) en tolueno anhidro (2,925 ml) se agregan 0,2 mg de Novozymes 435 y ácido píválico (0,32 mmol, 33 mg). La reacción se calienta a 40 grados Celcius y es seguida por HPLC. Luego de detener la reacción, se filtra la enzima y se lava con una pequeña cantidad de tolueno. Las fases orgánicas combinadas se evaporan al vacío y posteriormente se analizan por cromatografía líquida supercrítica. El resultado se indica en la tabla 18.

Entrada	Análogo	Tiempo (h)	Éster			Diol	
			Conversión	%	Conf	%	Conf
			(%)	EE		EE	
1	5-bromo	24	54	74,9	R	97,1	S
2	5-carboxamida	96	33	81,3	R	41,7	S
3	5-yodo	24	54	99,9	R	99,5	S
4	5-cloro	24	51	74,9	R	96,3	S
5	5-formilo	24	33	61,1	R	21,5	S

Tabla 18

Ejemplo 40

La influencia de varios ácidos carboxílicos sobre la acilación enzimática usando Novozymes 435

A una solución agitada de 4-[4-dimetilamino-1-(4-fluoro-fenil)-1-hidroxi-butil]-3-hidroximetil-benzonitrilo racémico (0,29 mmol, 100 mg) y vinilbutirato (0,29 mmol, 37 µl) en tolueno anhidro (2,925 ml) se agrega Novozymes 435 (0,2 mg) y 1,1 eq. de ácido carboxílico. La reacción se calienta a 40 grados Celsius y es seguida por HPLC. La enzima se filtra y se lava con una pequeña cantidad de tolueno. Las fases orgánicas combinadas se evaporan al vacío y posteriormente se analizan por cromatografía líquida supercrítica. El resultado se indica en la tabla 19.

224

En- tra- da	Ácido carboxílico	Tiempo (h)	Conversión (%)	Éster		Diol	
				% EE	Conf	% EE	Conf
1	Ácido acético	24	18	92,1	R	65,7	S
2	Ácido propiónico	24	34	89,7	R	94,7	S
3	Ácido piválico	24	55	88,3	R	85,5	S
4	Ácido ciclohexan- carboxílico	24	55	84,5	R	99,7	S
5	Ácido benzoico	72	50	92,3	R	86,7	S
6	Ácido hidrocinámi- co	72	48	94,1	R	84,3	S
7	Ácido isovalérico	48	51	88,3	R	90,7	S
8	Ácido decanoico	72	53	82,9	R	86,9	S
9	Ácido isobutírico	48	53	86,9	R	92,7	S
10	Ácido crotonico	72	54	82,9	R	95,1	S
11	Ácido 2- etilbutírico	24	50	87,1	R	94,3	S
12	Ácido palmitico	48	54	71,3	R	93,3	S

Tabla 19

225

Ejemplo 41

Butirato de (R)-5-ciano-2-[dimetilamino-(4'-fluorofenil)-hidroxibutil]bencilo

Un matraz de cuatro bocas equipado con un agitador y un termómetro se cargó con 219 g de una solución que contenía 21,9 g (0,064 mol) de (±)-4-[4-dimetilamino-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil]-3-hidroximetilbenzonitrilo en tolueno. A continuación, se agregaron 14,6 g (0,128 mmol) de butirato de vinilo, 5,07 g (0,128 mol) de piridina, 7,89 g (0,064 mol) de ácido benzoico y 2,19 g de una enzima inmovilizada (Novozym 435) en la mezcla anterior. La mezcla de reacción se dejó calentar hasta 60°C y se agitó durante 15 horas en una ligera corriente de nitrógeno y se detuvo la agitación. Se filtró la enzima de la mezcla de reacción con un embudo de Kiriama, y se lavó con 50 g de tolueno. La capa de tolueno combinada se lavó dos veces con agua (255 ml, 265 ml) y se concentró para obtener 14,9 g de sal butirato del ácido (R)-5-ciano-2-[dimetilamino-(4'-fluorofenil)-hidroxibutil]bencil benzoico.

A una mezcla de 4,0 g de sal butirato del ácido (R)-5-ciano-2-[dimetilamino-(4'-fluorofenil)-hidroxibutil]bencil benzoico (7,48 mmol), 40 ml de agua y 40 ml de tolueno se agregaron 1,26 g de 30 % de hidróxido de sodio (9,45 mmol) agitando, la mezcla se mantuvo con agitación durante 30 minutos. Luego de agitar, la mezcla se dejó reposar y se separó la capa de tolueno. La capa de tolueno se lavó con 40 ml de agua y se concentró a 40 °C a presión reducida, a fin de obtener 2,7 g de butirato de (R)-5-ciano-2-[dimetilamino-(4'-fluorofenil)-hidroxibutil]bencilo.

¹H NMR (400 MHz, CDCl₃) δ (ppm): 7.69 (1H, s), 7.68–7.56 (2H, m), 7.36–7.23 (2H, m), 7.02–6.90 (2H, m), 5.41 (1H, d, J = 14.9 Hz), 4.99 (1H, d, J = 14.6 Hz), 2.59–2.42 (1H, m), 2.40–2.30 (3H, m), 2.26 (2H, dt, J = 7.3 Hz, 1.5 Hz), 2.18 (6H, s), 1.68–1.57 (2H, m), 1.67–1.46 (2H, m), 0.93 (3H, t, J = 7.6 Hz).

Ejemplo 42

Oxalato de escitalopram

Se disolvió (S)-4-(4-dimetilamino)-1-(4'-fluorofenil)-1-hidroxibutil)-3-hidroximetilbenzonitrilo (15,8 g, 46,2 mmol) que tenía una pureza química de 99 % y un ee de 98,7 % tal como se determinó por medio de la cromatografía líquida supercrítica quiral en tolueno (100 ml). Se agregó trietilamina (13,0 ml, 93,2 mmol) seguido por una lenta adición de una solución de cloruro de tosilo (9,4 g, 49,4 mmol) en tolueno (100 ml). La solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 20 min., luego se agregaron agua (50 ml) y amoníaco concentrado (25 ml). La mezcla se agitó a 45 °C durante 2 min, se transfirió a un embudo de separación. Las fases se separaron y la fase orgánica se lavó con agua (50 ml), se secó con MgSO₄, se filtró y se concentró a presión reducida para obtener el producto crudo (14,2 g) con un rendimiento del 85 %.

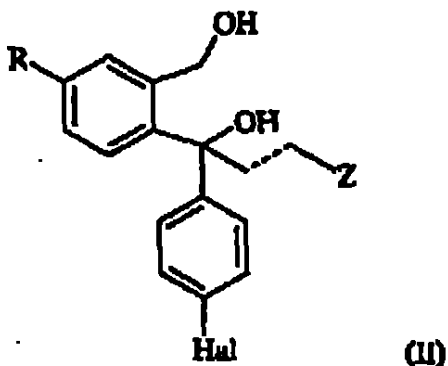
El producto crudo se disolvió en etanol (17 ml) y se adicionó una solución de ácido oxálico (3,95 g, 43,9 mmol) en etanol (27 ml). El precipitado se recogió por filtración para obtener oxalato de Escitalopram (14,0 g), el cual se recrystalizó a partir de etanol (85 ml) para obtener el producto final (12,2 g). Se determinó que la pureza por HPLC era de 99,65 %. El ee era de 98,5 % determinado por cromatografía líquida supercrítica quiral.

227

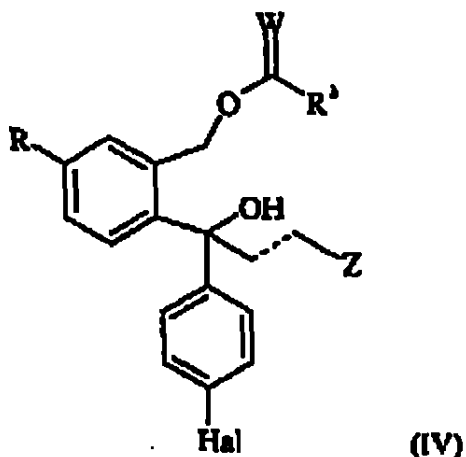
REIVINDICACIONES

Habiendo así descripto y determinado la naturaleza de la presente invención y la forma como la misma ha de ser llevada a la práctica, se declara reivindicar como de propiedad y derecho exclusivo:

1. Un método para la preparación del enantiómero R o S de un diol que tiene la fórmula



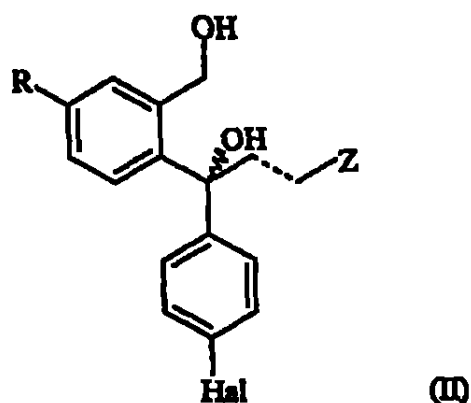
donde R es ciano o un grupo que puede convertirse a un grupo ciano, Z es un grupo $-\text{CH}_2\text{N}(\text{R}'\text{R}'')$ donde R' y R'' son alquilo C_{1-8} , o R' y R'' están conectados entre sí para formar una estructura cíclica incluyendo el átomo N al cual están unido, o Z es un grupo que puede convertirse a un grupo dimetilaminometilo, la línea punteada representa un enlace doble o simple y Hal es halógeno o una sal del mismo, y/o el enantiómero opuesto de un diol acilado que tiene la fórmula



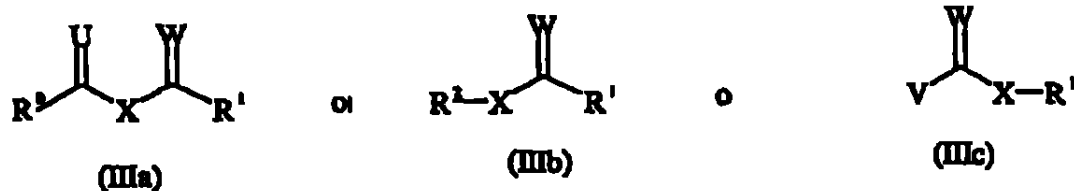
donde R, Z, la línea punteada y Hal son tal como se definieron anteriormente, W es O o S, y R^3 es $-Y-R^1$, donde R^1 es alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} o alquinilo C_{2-10} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} , di-(alquil C_{1-10})amino, arilo, ariloxi, ariltio y heteroarilo, o R^1 es arilo; en donde cualquiera de los grupos arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} y di-(alquil C_{1-10})amino e Y es un enlace, O, S o NH, o una sal del mismo, que comprende

220
229

a) someter un compuesto racémico de fórmula



donde R, Z, la línea punteada y Hal son tal como se definieron anteriormente, para la acilación enzimática selectiva utilizando un agente acilante que tiene la fórmula



o un isocianato que tiene la fórmula $\text{R}^1 - \text{N} = \text{C} = \text{O}$ o un isotiocianato que tiene la fórmula $\text{R}^1 - \text{N} = \text{C} = \text{S}$;

donde X es O o S; W es O o S; U es O o S, V es halógeno;

R^0 es alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} o alquinilo C_{2-10} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano,

230

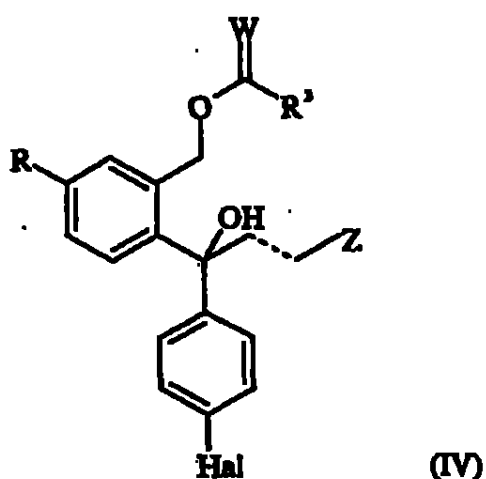
alquilamino C₁₋₁₀, di-(alquil C₁₋₁₀)amino, arilo; arilo, arilo, arilo y heteroarilo, o R⁰ es arilo, donde cualquiera de los grupos arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, alcoxi C₁₋₁₀, alquiltio C₁₋₁₀, hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₁₀ y di-(alquil C₁₋₁₀)amino;

R¹ es como se definió para R⁰:

R² es como se definió para R⁰, o R² es un grupo saliente apropiado;

o R⁰ y R¹ juntos forman una cadena de 3 a 5 átomos de carbono;

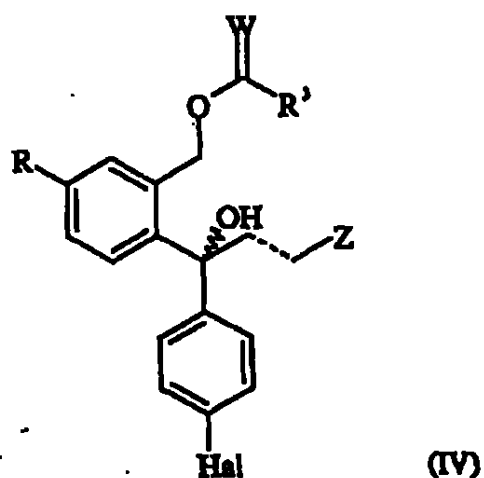
siempre que W y U no sean S cuando X es S; para formar una mezcla del material de partida de la fórmula (II) en cualquier forma R o S y el enantiómero opuesto de un compuesto que tiene la fórmula



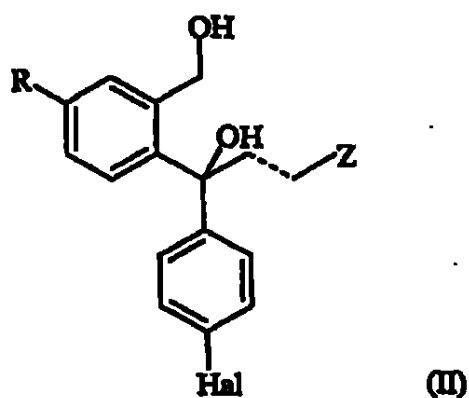
en donde R, W, Hal, R³, la línea punteada y Z son como se definieron anteriormente; o

231

b) someter una compuesto racémico de fórmula



en donde R, Z, W, Hal la línea punteada y R³ son como se definieron anteriormente, para desacilación enzimático selectiva para formar una mezcla de un compuesto deacilado de fórmula



en donde R, Hal, la línea punteada y Z son como se definieron anteriormente en cualquier forma R o S y el material de partida acilado de la fórmula (IV) en la forma del enantiómero opuesto;

opcionalmente seguido de, en cualquier orden, aislamiento del enantiómero S o R del compuesto de fórmula (II) y/o el enantiómero opuesto del compuesto de

fórmula (IV) o una sal del mismo.

2. El método de acuerdo con la reivindicación 1 a).
3. El método de acuerdo con la reivindicación 1 b).
4. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde la acilación del compuesto de fórmula (II) da por resultado una mezcla que contiene el compuesto de fórmula (II) en la forma S y el compuesto de fórmula (IV) en la forma R.
5. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en donde la acilación del compuesto de fórmula (II) da por resultado una mezcla del compuesto de fórmula (II) en la forma R y el compuesto de fórmula (IV) en la forma S.
6. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3, en donde la desacilación del compuesto de fórmula (IV) da por resultado una mezcla que contiene el compuesto de fórmula (IV) en la forma S y el compuesto de fórmula (II) en la forma R.
7. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 y 3, en donde la desacilación del compuesto de fórmula (IV) da por resultado una mezcla que contiene el compuesto de fórmula (IV) en la forma R y el compuesto de fórmula (II) en la forma S.
8. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-7, donde Hal es flúor y R es halógeno o ciano, se prefiere que R sea ciano.
9. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8 en donde la línea punteada representa un enlace simple.
10. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-9 en donde y Z es dimetilaminometilo o un grupo que puede convertirse a un grupo dimetilaminometilo, se prefiere que Z sea un grupo dimetilaminometilo.
11. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, 4-5 y 8-

10 en donde el agente acilante es un compuesto seleccionado de los compuestos de fórmula (IIIa), (IIIb) y (IIIc).

12. El método de acuerdo con la reivindicación 11 en donde el agente acilante es un compuesto seleccionado de los compuestos de fórmula (IIIa) y (IIIb).

13. El método de acuerdo con la reivindicación 12 en donde el agente acilante es un compuesto de fórmula (IIIa).

14. El método de acuerdo con la reivindicación 12 en donde el agente acilante es un compuesto de fórmula (IIIb).

15. El método de acuerdo con la reivindicación 11 en donde el agente acilante es un compuesto de fórmula (IIIc).

16. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11-13 en donde U es O.

17. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11-13 en donde W es O.

18. El método de acuerdo con las reivindicaciones 11-17 en donde X es O.

19. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 11-18 en donde R^0 , R^1 y R^2 se seleccionan independientemente de alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} y alquinilo C_{2-4} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-4} , alquiltio C_{1-4} , hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-4} y di-(alquil C_{1-4})amino o R^2 es un grupo saliente apropiado, tal como succinimidilo, HOBT y pfp o R^0 y R^1 forman juntos una cadena de 3—5 átomos de carbono.

20. El método de acuerdo con la reivindicación 19 en donde R^0 , R^1 y R^2 se seleccionan independientemente de alquilo C_{1-3} , alquenilo C_{2-3} y alquinilo C_{2-3} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-3} , alquiltio C_{1-3} , hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-3} y di-(alquil C_{1-3})amino.

21. El método de acuerdo con la reivindicación 20 en donde R^0 y R^1 son alquilo C_{1-3} y R^2 es alquilo C_{1-3} sustituido una o más veces con halógeno o R^2 es alquenilo C_{2-3} .
22. El método de acuerdo con la reivindicación 13 en donde R^0 y R^1 se seleccionan independientemente de alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} y alquinilo C_{2-4} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-4} , alquiltio C_{1-4} , hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-4} y di-(alquil C_{1-4})amino.
23. El método de acuerdo con la reivindicación 22 en donde R^0 y R^1 se seleccionan independientemente de alquilo C_{1-3} , alquenilo C_{2-3} y alquinilo C_{2-3} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-3} , alquiltio C_{1-3} , hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-3} y di-(alquil C_{1-3})amino.
24. El método de acuerdo con la reivindicación 22 en donde R^0 y R^1 son alquilo C_{1-4} .
25. El método de la reivindicación 24 en donde R^0 y R^1 son alquilo C_{1-3} , conveniente metilo, etilo o propilo, se prefiere propilo.
26. El método de la reivindicación 14 en donde R^1 y R^2 se seleccionan independientemente de alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} y alquinilo C_{2-4} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de C_{1-4} -alcoxi, C_{1-4} -alquiltio, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, C_{1-4} -alquilamino y di-(C_{1-4} -alquil)amino o R^2 es otro grupo saliente apropiado, tal como succinimidilo, HOBt y pfp.
27. El método de la reivindicación 26 en donde R^1 se selecciona de C_{1-3} -alquilo, C_{2-3} -alquenilo y C_{2-3} -alquinilo todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-3} , alquiltio C_{1-3} , hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-3} y di-

(alquil C₁₋₃)amino y R² es alquilo C₁₋₄sustituido una o más veces con halógeno o R² es alquenilo C₂₋₄.

28. El método de acuerdo con la reivindicación 27 en donde R¹ se selecciona de alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ y alquinilo C₂₋₃ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₃, alquiltio C₁₋₃, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₃ y di-(alquil C₁₋₃)amino y R² es alquilo C₁₋₃sustituido una o más veces con halógeno o R² es alquenilo C₂₋₃.

29. El método de la reivindicación 27 en donde R¹ es C₁₋₃-alquilo.

30. El método de acuerdo con la reivindicación 29 en donde R¹ es alquilo C₁₋₃, tal como metilo, etilo o propilo y C₁₋₃-alquilo sustituido una o más veces con halógeno y R² es alquenilo C₂₋₃.

31. El método de acuerdo con la reivindicación 30 donde R² es vinilo.

32. El método de acuerdo con la reivindicación 31 en donde R¹ es propilo.

33. El método de acuerdo con la reivindicación 15 en donde R¹ es alquilo C₁₋₄, alquenilo C₂₋₄ y alquinilo C₂₋₄ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₄ y di-(alquil C₁₋₄)amino.

34. El método de acuerdo con la reivindicación 33 en donde R¹ es -alquilo C₁₋₃, -alquenilo C₂₋₃ y alquinilo C₂₋₃ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₃, alquiltio C₁₋₃, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₃ y di-(alquil) C₁₋₃amino.

35. El método de acuerdo con la reivindicación 34 en donde R¹ es alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ o alquinilo C₂₋₃, se prefiere que R¹ sea alquilo C₁₋₃, tal como metilo, etilo o propilo, se prefiere propilo.

36. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, 4-5 y 8-10 en donde el agente acilante es un isocianato de fórmula $R^1-N=C=O$ o un isotiocianato de la fórmula $R^1-N=C=S$.
37. El método de acuerdo con la reivindicación 36 en donde el agente acilante es un isotiocianato de la fórmula $R^1-N=C=S$.
38. El método de acuerdo con la reivindicación 36 en donde el reactivo acilante es un isocianato de la fórmula $R^1-N=C=O$.
39. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 36-38 en donde R^1 es alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} o alquinilo C_{2-4} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-4} , alquiltio C_{1-4} , hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-4} y di-(alquil C_{1-4})amino.
40. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 39 donde R^1 es alquilo C_{1-3} , alquenilo C_{2-3} o alquinilo C_{2-3} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-3} , alquiltio C_{1-3} , hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-3} y di-(alquil C_{1-3})amino.
41. El método de acuerdo con la reivindicación 40 en donde R^1 es alquilo C_{1-3} , alquenilo C_{2-3} o alquinilo C_{2-3} .
42. El método de la reivindicación 41 en donde R^1 es metilo, etilo o propilo, se prefiere propilo.
43. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 3 y 6-10 en donde el compuesto racémico de fórmula (IV) utilizado es un compuesto donde Y es O, o S.
44. El método de acuerdo con la reivindicación 43 en donde el compuesto racémico de fórmula (IV) es un compuesto donde Y es O.
45. El método de acuerdo con la reivindicación 43 en donde el compuesto

237

racémico de fórmula (IV) utilizado es un compuesto donde Y es S.

46. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 3 y 6-10 en donde el compuesto racémico de fórmula (IV) utilizado es un compuesto donde Y es un enlace.

47. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 3 y 6-10 en donde el compuesto racémico de fórmula (IV) utilizado es un compuesto donde Y es NH.

48. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 43-47 en donde donde R^1 es alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} o alquinilo C_{2-10} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} , di-(alquil C_{1-10}) amino.

49. El método de acuerdo con la reivindicación 48 en donde R^1 es alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} o alquinilo C_{2-10} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de hidroxilo, halógeno, amino, nitro y ciano.

50. El método de acuerdo con la reivindicación 49 en donde R^1 es C_{1-10} -alquilo.

51. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-2, 4-5 y 8-42 donde la acilación enzimática se lleva a cabo con una hidrolasa, tal como una lipasa, una esterasa, una acilasa o una proteasa.

52. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1, 3, 6-10 y 40-50 donde la desacilación enzimática se lleva a cabo con una hidrolasa, tal como una lipasa, una esterasa, una acilasa o una proteasa.

53. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 51-52 en donde la hidrolasa se utiliza en la forma de una enzima inmovilizada o enzimas cristalizadas y reticuladas (CLEC).

54. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 51-53 en

donde la enzima utilizada se selecciona de lipoproteína lipasa de *Pseudomonas* sp., lipasa B de *Candida antarctica* y lipasa de *Thermomyces lanuginosus* o un mutante o variante de estas enzimas.

55. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 51-54 en donde la enzima es la lipoproteína lipasa de *Pseudomonas* sp. o un mutante o una variante de la lipoproteína lipasa de *Pseudomonas* sp.

56. El método de acuerdo con la reivindicación 55 en donde la enzima utilizada es la lipoproteína lipasa de *Pseudomonas* sp.

57. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 51-54 en donde la enzima es la lipasa B de *Candida antarctica* o un mutante o variante de la lipasa B de *Candida antarctica*.

58. El método de acuerdo con la reivindicación 57 en donde la enzima es lipasa B de *Candida antarctica*.

59. El método de acuerdo con la reivindicación 58 en donde la enzima es Novozyme®435.

60. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 51-54 en donde la enzima es la lipasa de *Thermomyces lanuginosus* o un mutante o variante de la lipasa de *Thermomyces lanuginosus*.

61. El método de acuerdo con la reivindicación 60 en donde la enzima es la lipasa de *Thermomyces lanuginosus*.

62. El método de acuerdo con la reivindicación 61 en donde la enzima es la Lypozyme™ TLIM.

63. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-62 en donde la acilación enzimática o la desacilación enzimática se lleva a cabo en presencia de una base orgánica o un ácido orgánico o una mezcla de los mismos.

64. El método de acuerdo con la reivindicación 63 en donde la acilación enzimática o la desacilación enzimática se lleva a cabo en presencia de un ácido

orgánico.

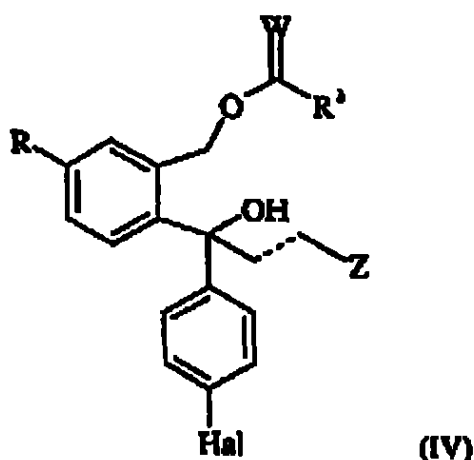
65. El método de acuerdo con la reivindicación 64 en donde la acilación enzimática se lleva a cabo en presencia de un ácido orgánico.

66. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 64-65 en donde el ácido orgánico es un ácido carboxílico aromático o un ácido carboxílico alifático.

67. El método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 63-66 en donde el ácido orgánico se selecciona del ácido n-propionico, ácido iso-propionico, ácido n-butirico, ácido iso-butirico, ácido iso-valerico, ácido 2-etilbutirico, ácido ciclohexancarboxílico, ácido pivalico, ácido benzoico, ácido p-toluico, ácido salicílico y ácido 3-fenilpropiónico.

68. El método de acuerdo con la reivindicación 67 en donde el ácido orgánico es ácido pivalico.

69. El enantiómero S o R de un compuesto que tiene la fórmula (IV).



donde R es ciano o un grupo que puede convertirse a un grupo ciano, Z es un grupo $-\text{CH}_2\text{N}(\text{R}'\text{R}'')$ donde R' y R'' son alquilo C_{1-8} , o R' y R'' están conectados entre si para formar una estructura cíclica que incluye el N-átomo al cual están unidos, o Z es un grupo que puede convertirse a un grupo

dimetilaminometilo, Hal es halógeno, W es O o S, la línea punteada representa un enlace doble o simple, R^3 es $-Y-R^1$, donde R^1 es alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} o alquinilo C_{2-10} todos los cuales pueden ser opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} , di-(alquil C_{1-10})amino, arilo, ariloxi, ariltio y heteroarilo, o R^1 es arilo, donde cualquiera de los grupos arilo y heteroarilo puede estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} y di-(alquil C_{1-10})amino e Y es un enlace, O, S o NH, o una sal del mismo.

70. El enantiómero de acuerdo con la reivindicación 69 en donde Hal es flúor, R es halógeno o ciano, se prefiere que R sea ciano.

71. El enantiómero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 69-70 en donde la línea punteada representa un enlace simple.

72. El enantiómero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 70-71 donde Z es dimetilaminometilo o un grupo que puede convertirse a un grupo dimetilaminometilo, se prefiere que Z sea dimetilaminometilo.

73. El enantiómero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 69-72 donde Y es O o S.

74. El enantiómero de acuerdo con la reivindicación 73 en donde Y es O.

75. El enantiómero de acuerdo con la reivindicación 73 en donde Y es S.

76. El enantiómero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 69-72 donde Y es un enlace.

77. El enantiómero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 69 – 72 donde Y es NH.

78. El enantiómero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 69 – 72 donde R^1 es alquilo C_{1-4} , alquenilo C_{2-4} y alquinilo C_{2-4} todos los cuales pueden

estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₄, alquiltio C₁₋₄, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₈ y di-(alquil C₁₋₄)amino.

79. El enantiómero de acuerdo con la reivindicación 78 donde R¹ es alquilo C₁₋₃, alquenilo C₂₋₃ y alquinilo C₂₋₃ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₃, alquiltio C₁₋₃, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₃ y di-(alquil C₁₋₃)amino.

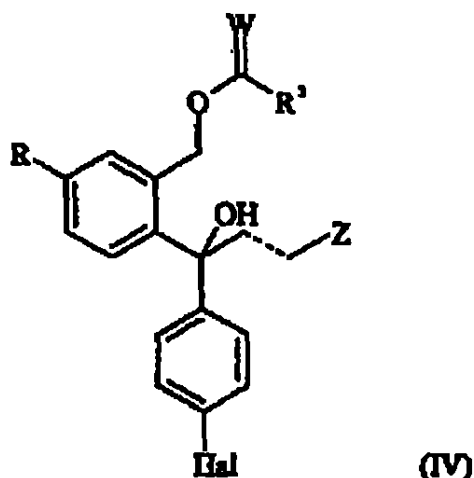
80. El enantiómero de acuerdo con la reivindicación 79 donde R¹ es alquilo C₁₋₃.

81. El enantiómero de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 69 – 77 donde R¹ es alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₁₀, alquiltio C₁₋₁₀, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₈, di-(alquil C₁₋₁₀)amino.

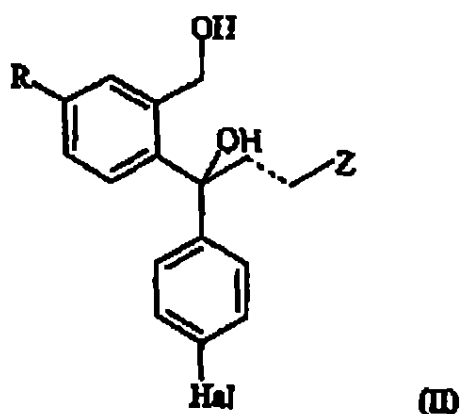
82. El enantiómero de acuerdo con la reivindicación 81 donde R¹ es alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀ o alquinilo C₂₋₁₀ todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de hidroxí, halógeno, amino, nitro y ciano.

83. El enantiómero de acuerdo con la reivindicación 82 donde R¹ es alquilo C₁₋₁₀, preferentemente alquilo C₁₋₁₀ no ramificado.

84. Un método para el aislamiento y la purificación del compuesto que tiene la fórmula



donde R es ciano, o un grupo que puede convertirse a un grupo ciano, la línea punteada es un enlace doble o simple Hal es halógeno, y Z es un grupo $\text{--CH}_2\text{--N(R'R'')}$ donde R' y R'' son alquilo C_{1-8} , o R' y R'' están conectados entre si para formar una estructura cíclica que incluye el N-átomo al cual están unidos, o Z es un grupo que puede convertirse a un grupo dimetilaminometilo, W es O o S y R^1 es --Y--R^1 donde Y es un enlace, O, S o NH y R^1 es alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} o alquinilo C_{2-10} todos los cuales pueden ser opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} , di-(alquil C_{1-10})amino, arilo, ariloxi, ariltio y heteroarilo, o R^1 es arilo, donde cualquiera de los grupos arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} y di-(alquil C_{1-10})amino, o una sal de los mismos y/o el diol de fórmula



donde R, Z, Hal y la línea punteada son como se definieron anteriormente o una sal de los mismos, a partir de una mezcla que contiene el compuesto de Fórmula (IV) y el diol de fórmula (II), que comprende:

- a) tratar dicha mezcla que contiene el compuesto de fórmula (IV) y el diol de fórmula (II) en una mezcla de agua y un solvente orgánico en presencia de un ácido;
- b) separar la fase acuosa que contiene el diol de fórmula (II) como una sal de dicho ácido de la fase orgánica para obtener una fase orgánica que contiene el compuesto de fórmula (IV) como una sal de dicho ácido; y

opcionalmente aislar el compuesto de fórmula (II) como la base o como una sal del mismo, y opcionalmente aislar el compuesto de fórmula (IV) como la base o una sal del mismo.

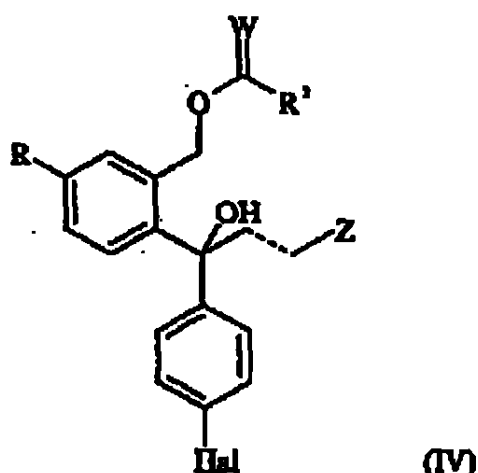
85. El método de acuerdo con la reivindicación 84 en donde el enantiómero S del diol de fórmula (II) se separa del enantiómero R del derivado de acilo de fórmula (IV).

86. El método de acuerdo con la reivindicación 84 en donde el enantiómero S del derivado de acilo de fórmula (IV) se separa del enantiómero R del diol de fórmula (II).

87. El método de acuerdo con las reivindicaciones 84-86 en donde la mezcla

del enantiómero R o S de un derivado de acilo de fórmula (IV) y el enantiómero opuesto de un diol de fórmula (II) utilizado en el paso a) ha sido preparado de acuerdo con el método en las reivindicaciones 1-62.

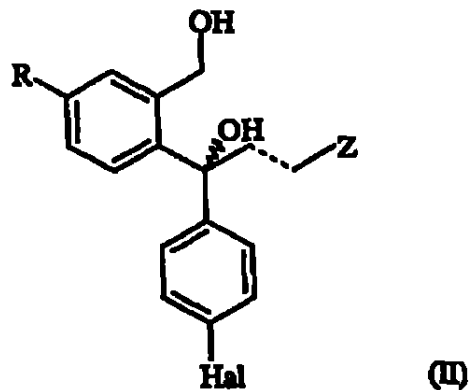
88. Un método para el aislamiento y purificación del derivado de acilo que tiene la fórmula



donde R es ciano o un grupo que puede convertirse a un grupo ciano, Hal es halógeno, la línea punteada representa un enlace doble o simple, Z es un grupo $-\text{CH}_2\text{N}(\text{R}'\text{R}'')$ donde R' y R'' son -alquilo C_{1-6} , o R' y R'' están conectados entre si para formar una estructura cíclica que incluye el átomo N al cual están unidos, o Z es un grupo que puede convertirse a un grupo dimetilaminometilo, W es O o S; y R^3 es $-\text{Y}-\text{R}^1$ donde Y es un enlace, O, S o NH y R^1 es alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} o alquinilo C_{2-10} todos los cuales pueden ser opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de -alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxilo, halógeno, amino, nitro, ciano, Iquilamino C_{1-10} , di-(alquil)amino C_{1-10} , arilo, ariloxi, ariltio y heteroarilo, o R^1 es arilo, donde cualquiera de los grupos arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-10} , -alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxilo, halógeno,

amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} y di-(alquil C_{1-10})amino, o una sal de los mismos.

y/o el diol de fórmula



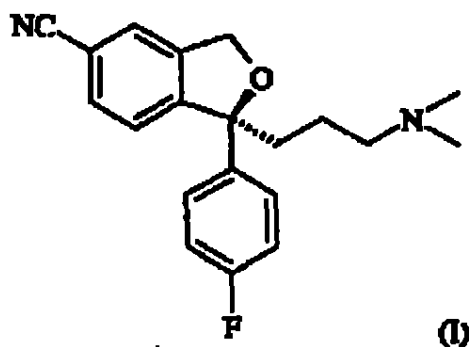
donde R, Hal, Z y la línea punteada son como se definieron anteriormente, a partir de una mezcla que contiene el derivado de acilo de fórmula (IV) y el diol de fórmula (II), que comprende:

a) tratar dicha mezcla que contiene el derivado de acilo de fórmula (IV) y el diol de fórmula (II) en una mezcla de agua, un solvente orgánico prótico y un solvente orgánico apolar;

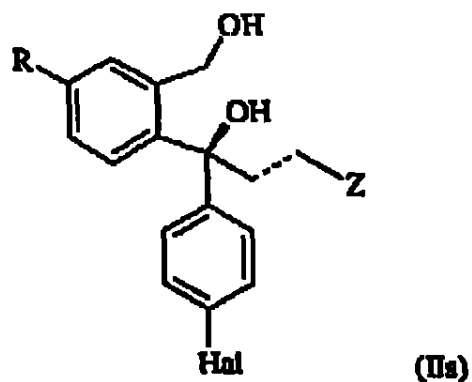
b) separar la fase acuosa que contiene el diol de fórmula (II), de la fase orgánica para obtener una fase orgánica que contiene el derivado de acilo de fórmula (IV); y

aislar opcionalmente el diol de fórmula (II) y/o el compuesto de fórmula (IV) de la fase acuosa / orgánica, y opcionalmente la conversión del compuesto de fórmula (II) y/o (IV) a una sal del mismo.

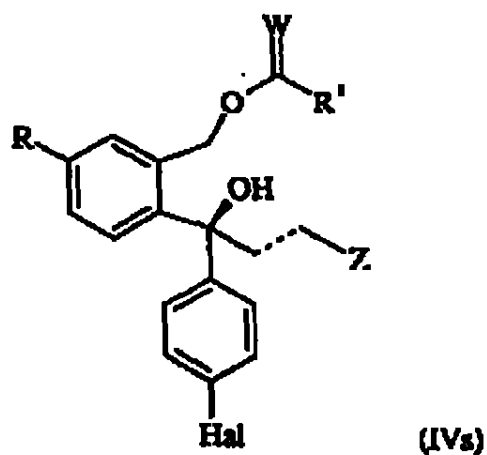
89. El método de acuerdo con la reivindicación 88 en donde el S-diol del diol de fórmula (II) se separa del enantiómero R del derivado de acilo de fórmula (IV).
90. El método de acuerdo con la reivindicación 88 en donde el enantiómero S del derivado de acilo de fórmula (IV) se separa del enantiómero R del diol de fórmula (II).
91. El método de acuerdo con las reivindicaciones 88 – 90 donde la mezcla del enantiómero R o S de un compuesto de fórmula (IV) y el enantiómero opuesto de un compuesto de fórmula (II) utilizado en el paso a) ha sido preparado de acuerdo con el método en las reivindicaciones 1-62.
92. Un proceso para la preparación de escitalopram que tiene la fórmula



o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que comprende la preparación del enantiómero S de un diol que tiene la fórmula

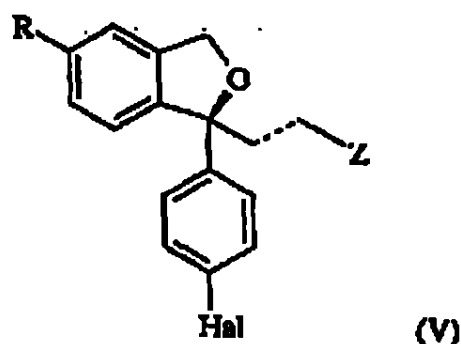


en donde R es ciano o un grupo que puede convertirse a un grupo ciano, la línea punteada representa un enlace doble o simple, Z es un grupo dimetilaminometilo o un grupo que puede convertirse a un grupo dimetilaminometilo y Hal es halógeno, o una sal del mismo, o el enantiómero S de un diol acilado que tiene la fórmula



donde R, Z, la línea punteada y Hal son como se definieron anteriormente, W es O o S, y R^1 es $-Y-R^1$, donde R^1 es alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} o alquinilo C_2 .

10 todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C₁₋₁₀, alquiltio C₁₋₁₀, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₁₀, di-(alquil C₁₋₁₀)amino, arilo, ariloxi, ariltio y heteroarilo, o R¹ es arilo; en donde cualquiera de los grupos arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alquilo C₁₋₁₀, alquenilo C₂₋₁₀, alquinilo C₂₋₁₀, alcoxi C₁₋₁₀, alquiltio C₁₋₁₀, hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C₁₋₁₀ y di-(alquil C₁₋₁₀)amino e Y es un enlace, O, S o NH, o una sal del mismo, mediante el método en cualquiera de las reivindicaciones 1-62, seguido opcionalmente de, en cualquier orden, la conversión del grupo R a un grupo ciano, la conversión del grupo Z a un grupo dimetilaminometilo, la reducción de un enlace doble representado por la línea punteada a un enlace simple y/o la conversión del grupo Hal en un grupo flúor y luego el cierre del anillo en condiciones básicas del enantiómero S de fórmula (IIs) o (IVs) o un derivado de éster lábil del mismo para formar un compuesto de fórmula



seguido por en cualquier orden; si R no es ciano la conversión del grupo R en un grupo ciano, si Z no es dimetilaminometilo la conversión del grupo Z en un grupo dimetilaminometilo, si la línea punteada representa la reducción de un

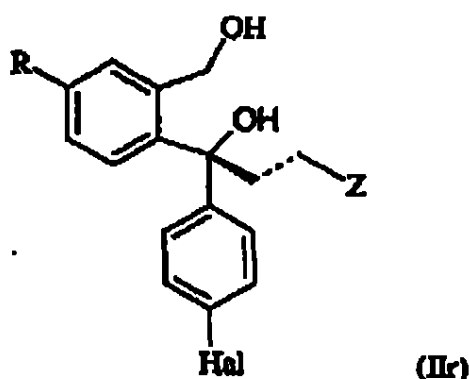
249 ~~240~~

enlace doble en un enlace simple y si Hal no es flúor, la conversión de Hal en un grupo flúor, seguido del aislamiento de escitalopram o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

93. El método de acuerdo con la reivindicación 92 en donde la mezcla del enantiómero R o S de un compuesto de fórmula (II) y el enantiómero opuesto del compuesto de fórmula (IV) obtenido mediante la acilación enzimática ha sido separado uno de otro mediante el proceso de aislamiento y purificación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 84-87.

94. El método de acuerdo con la reivindicación 92 en donde el enantiómero R o S de un compuesto de fórmula (II) y el enantiómero opuesto del compuesto de fórmula (IV) obtenido mediante la acilación enzimática ha sido separado uno de otro mediante el proceso de aislamiento y purificación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 88 - 91.

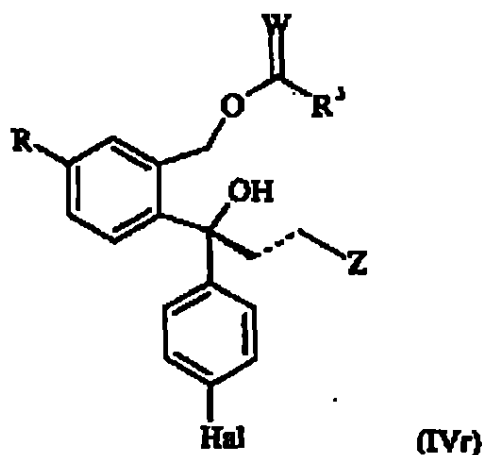
95. Un método para la preparación de citalopram racémico y/o escitalopram o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo que comprende la preparación del enantiómero R de un diol que tiene la fórmula



en donde R es ciano o un grupo que puede convertirse a un grupo ciano, la línea punteada representa un enlace doble o simple y Z es un grupo

25 211

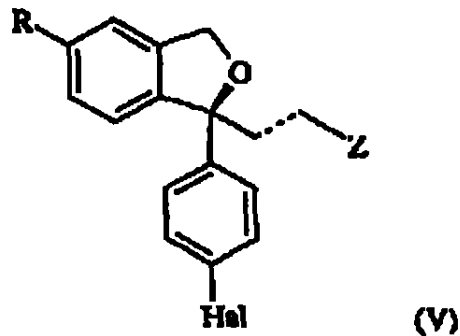
dimetilaminometilo o un grupo que puede convertirse a un grupo dimetilaminometilo y Hal es halógeno, o una sal del mismo, o el enantiómero R de un diol acilado que tiene la fórmula



en donde R, Z, la línea punteada son como se definieron anteriormente, W es O o S, y R^3 es $-Y-R^1$, donde R^1 es alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} o alquinilo C_{2-10} todos los cuales pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados a partir de alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} , di-(alquil C_{1-10})amino, arilo, ariloxi, ariltio y heteroarilo, o R^1 es arilo, donde cualquiera de los grupos arilo y heteroarilo pueden estar opcionalmente sustituidos una o más veces con sustituyentes seleccionados de alquilo C_{1-10} , alquenilo C_{2-10} , alquinilo C_{2-10} , alcoxi C_{1-10} , alquiltio C_{1-10} , hidroxí, halógeno, amino, nitro, ciano, alquilamino C_{1-10} y di-(alquil C_{1-10})amino y Y es un enlace, O, S o NH o una sal del mismo, mediante el método de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-62, seguido opcionalmente de, en cualquier orden, la conversión del grupo R a un grupo ciano, la reducción de un enlace doble representado por la línea punteada a un enlace simple, la conversión del grupo Z a un grupo dimetilaminometilo, y/o la

51 ~~242~~

conversión del grupo Hal en un grupo flúor y luego el cierre del anillo en condiciones ácidas del enantiómero R de fórmula (IIr) o (IVs) para formar una mezcla del enantiómero del compuesto de fórmula



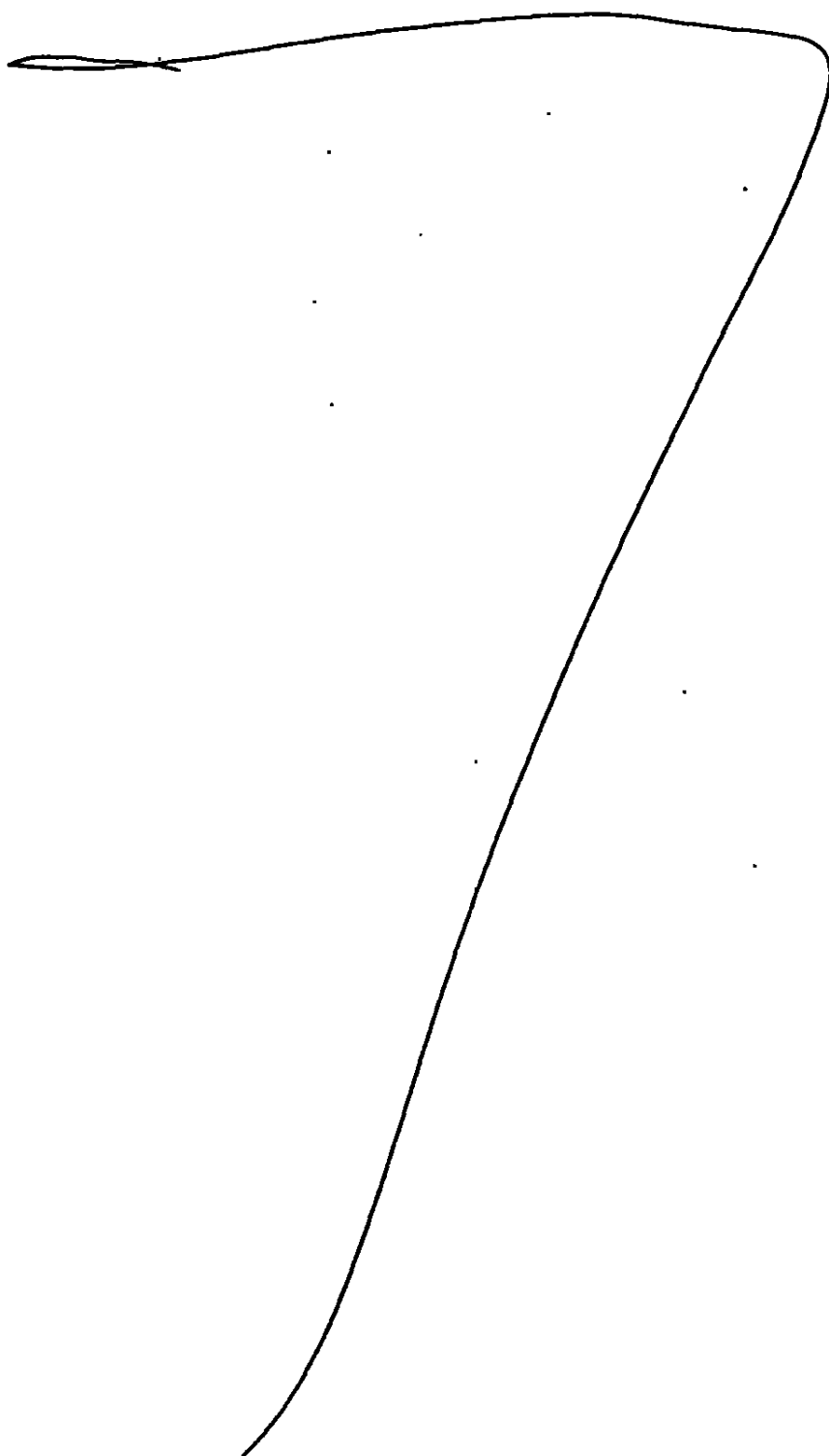
y una menor cantidad del enantiómero R correspondiente, seguido de, en cualquier orden; si R no es ciano la conversión del grupo R en un grupo ciano, si Z no es dimetilaminometilo la conversión del grupo Z en un grupo dimetilaminometilo, si la línea punteada representa la reducción de un enlace doble en un enlace simple y si Hal no es flúor, la conversión de Hal en un grupo flúor, seguido del aislamiento de escitalopram y/o citalopram racémico o una sal farmacéuticamente aceptable del mismo.

96. El método de acuerdo con la reivindicación 95 en donde el citalopram racémico se aísla mediante precipitación de la base libre del citalopram racémico o una sal del mismo y el escitalopram se recupera del agua madre de la precipitación.

97. El método de acuerdo con la reivindicación 95 en donde la mezcla del enantiómero R o S de un compuesto de fórmula (II) y el enantiómero opuesto del compuesto de fórmula (IV) obtenido mediante la acilación enzimática ha sido separado uno de otro mediante el proceso de aislamiento y purificación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 84 – 87.

98. El método de acuerdo con la reivindicación 95 en donde el enantiómero R o S de un compuesto de fórmula (II) y el enantiómero opuesto del compuesto de fórmula (IV) obtenido mediante la acilación enzimática ha sido separado uno de otro mediante el proceso de aislamiento y purificación de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 88 - 91.

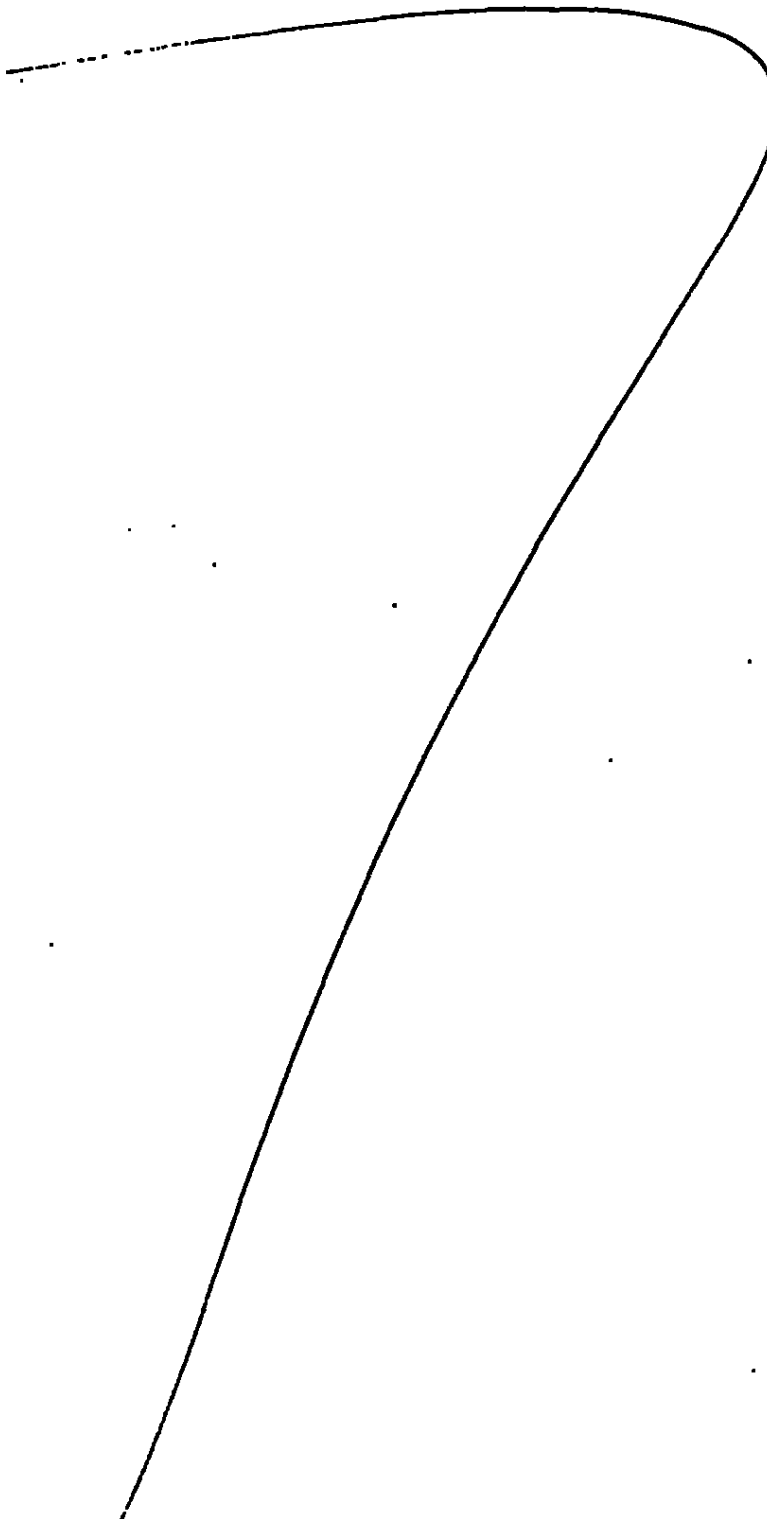
p.: H. LUNDBECK A/S



5/24

RESUMEN

La presente invención se refiere a un método nuevo para la preparación de intermedios diol útiles para la preparación de escitalopram que involucra la acilación o desacilación enzimática selectiva.



240 ()
For patents, utility models, industrial designs, trademarks, commercial names, trade emblems, slogans.

Para patentes, modelos de utilidad, diseños industriales, marcas de fábrica, nombres comerciales, enseñas, lemas comerciales.

REPRESENTACION Y PODER

REPRESENTATION AND POWER OF ATTORNEY

I (we), the undersigned / Yo (nosotros), abajo firmado (s)
H. LUNDBECK A/S.

of / domiciliado (s) en 9, Ottillavej, DK-2500,
Copenhagen, DENMARK

03003

06049

por el presente nombramos a GERMAN CAVELIER, tpa. 832; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; EMILIO FERRERO, tpa. 31929; y LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555; domiciliados en la Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, en obediencia a lo dispuesto en el parágrafo 1º del Artículo 543 del Código de Comercio, el primero como principal y los demás como suplentes, en su orden, como mis (nuestros) representantes en todos los asuntos de propiedad industrial con facultad para recibir notificaciones y nombrar apoderados judiciales o extrajudiciales. El primer representante suplente reemplazará al principal en caso de ausencia o impedimento temporal o definitivo de aquél. La misma regla se aplicará cuando el segundo representante suplente haya de reemplazar al primero, o el tercero al segundo. En tales casos, el representante principal, o el primero, o segundo suplente, en su caso, o ambos, declararán su intención de no ejercer la representación mediante declaración autenticada por Notario Público en Colombia, o por Notario u otro Funcionario Público, o Cónsul de Colombia, en el extranjero; y si se tratare de impedimento, con el certificado respectivo. Si alguno de los nombrados faltare definitivamente, el siguiente tomará su lugar. Cuando cesare la ausencia o impedimento del representante principal, o de su primero o segundo suplente, en su caso, podrán ejercer la representación, en su orden, uno u otros según el caso, asumiéndola por el solo hecho de ejercerla, cesando en ese momento el ejercicio de la representación por el primero, segundo o tercer suplente en su caso.

Además, confiero (conferimos) poder a los abogados arriba nombrados, para obtener la protección de mi (nuestra) propiedad industrial y contra la competencia desleal, a cuyo efecto autorizo (amos) a los dichos apoderados para que me (nos) representen ante cualesquiera entidades o personas, ejerzan o no jurisdicción, especialmente ante las del orden administrativo, contencioso-administrativo y judicial, así como los tribunales de arbitramento, en todo lo concerniente a los siguientes asuntos: a) Obtención de patentes de invención, modelos de utilidad, y diseños industriales; el registro de marcas de fábrica, colectivas, defensivas, de servicio, lemas comerciales, nombres comerciales, enseñas, variedades vegetales y denominaciones de origen; su renovación, traspaso, cambio de nombre o domicilio, cancelación voluntaria; y el registro de licencias de uso de esos derechos; b) Las acciones de competencia desleal, protección del consumidor, oposiciones u observaciones, cancelación administrativa y judicial, nulidad, medidas cautelares, concesión de licencias, la tutela, la protección de secretos industriales; y en general los juicios civiles, penales, administrativos o contencioso-administrativos relacionados con estos derechos; acciones y procesos que promovamos o se nos promuevan. Y para que en todos los asuntos arriba determinados, puedan sustituir este mandato, transigir, conciliar, admitir los hechos del proceso, desistir, cancelar, recibir, renunciar, y ratificar los actos de agentes oficiosos.

In due compliance with the terms of paragraph 1st. of article 543 of the Commercial Code, do hereby appoint GERMAN CAVELIER, tpa. 832; GONZALO PERDOMO, tpa. 831; EMILIO FERRERO, tpa. 31929; and LUZ CLEMENCIA DE PAEZ, tpa. 23555; domiciled at Carrera 4ª N° 72-35, Bogotá, Colombia, the first as principal and the others as alternates, in the order of their appointment, as our representatives for all industrial property matters with faculty to receive notifications and to appoint attorneys in and out of Court. The first alternate shall replace the principal in case of his absence or of temporal or definitive impediment. The same rule will apply when the second alternate representative is to replace the first one, or when the third is to replace the first or second alternates in their turn, or both of them, second. In such cases, the principal representative, or the first or second alternates in their turn, or both, of them, shall state their intention not to act as representatives through a declaration given before a Notary Public in Colombia, or before a Notary or another Public Official or a Colombian Consul abroad; and in case of impediment, the appropriate certificate shall suffice. If any of the appointees were to be definitely absent, the following alternate shall take his place. When the absence or impediment of the principal representative, or of the first or second alternate in their turn ceases, the representation can be taken again in their sequence, by the principal, the first or second alternate depending on case, and the mere fact or its exercise will suffice. The exercise of the representation by the first, second or third alternates in their turn shall end at such time.

In addition, we grant a Power of Attorney in favor of the above-named attorneys-at-law so that they may obtain the protection of my (our) industrial property and against the unfair competition, for which purpose I (we) authorize the said attorneys to represent me (us) before any authorities or persons, with or without jurisdiction, especially those administrative, administrative contencioso-administrative, judicial, as well as before Arbitration Courts, in all matters relating to the following: a) Obtainment of patents, utility models and industrial designs; the registration of trademarks, collective, defensive and service marks, slogans, commercial names, trade emblems, vegetal varieties and denominations of origin, its renewal, assignment, change of name or domicile, voluntary cancellation; and the registration of licenses of use of the above rights; b) Actions of unfair competition, protection to the consumer, oppositions or observations, administrative and judicial cancellation, nullity, infringement, granting of licenses, the action for writ mandamus, the protection of trade secrets, and in general the civil, penal, and administrative suits relating to those rights; actions and suits instituted by me (us) or against me (us). And that in all the above matters they may substitute this Power of Attorney, compromise, conciliate, admit the facts of the case, desist, cancel, receive, resign, and ratify acts done by representatives without a power of attorney.

Given and signed this / Dado y firmado hoy
11 June 1998

In/en Copenhagen

H. Lundbeck A/S

John Meidall Petersen

Signature
John Meidall Petersen
Patent Department

CAVELIER ABOGADOS
WPPODERE-1 (MINUTA N° 12.1.1.25)

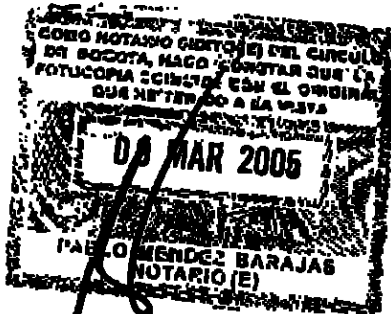
164033 06 0001.2101 12.06.98 RA
60100-02364/98 200.00 K

LEGALIZACION

El Señor Cónsul de Colombia debe expedir un *certificado consular* sobre (1) la existencia legal de la compañía que otorga el poder, (2) que ésta ejerce su objeto social, y (3) que las personas que otorgan el poder están autorizadas para darlo. A este efecto les solicitamos que muestren al Señor Cónsul las pruebas que acreditan esos hechos (1), (2) y (3).

LEGALIZATION

The Colombia Consul must issue a *consular certificate*, of the legal existence of the company, which grants Power-of-Attorney, (2) that it is in actual exercise of company purposes, and (3) that the persons who execute a Power of Attorney is authorized to do so. To this effect, please show the Consul the evidence to prove the above facts (1), (2) and (3).



NOTA PARA EL SEÑOR CONSUL DE COLOMBIA: Según los artículos 65 del C. de P.C. y 480 del C. de Co., si el poderdante es una sociedad, el Señor Cónsul debe certificar que tuvo a la vista las pruebas de su existencia, que ejerce su objeto social y que quien confiere el poder es su representante.

La suscrita Ilse Greby, notario público de Copenhague, Dinamarca, certifica que el señor

John Meidahl Petersen,

que en la fecha de hoy ha firmado ante mí el presente documento, está autorizado, según documentos justificativos que juzgo suficientes, para usar la firma de la sociedad denominada

H. LUNBECK A/S,

domiciliada en 9, Ottiliavej, DK-2500 Copenhague, Dinamarca, y que legalmente existe y actualmente ejerce su objeto social de acuerdo con las leyes del Dinamarca.

En fé de lo cual pongo mi firma y el sello notarial.

Notaría de Copenhague, a 11 de Junio de 1998.

Ilse Greby
Ilse Greby
notario público

Derechos: 200,- DKK.

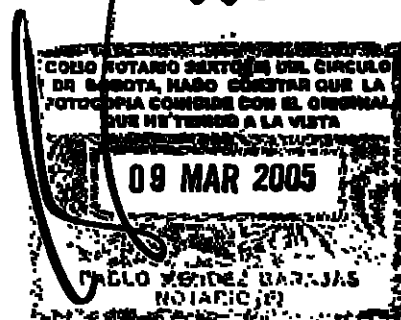


SE LEGALIZA LA FIRMA QUE ANTECEDE DE

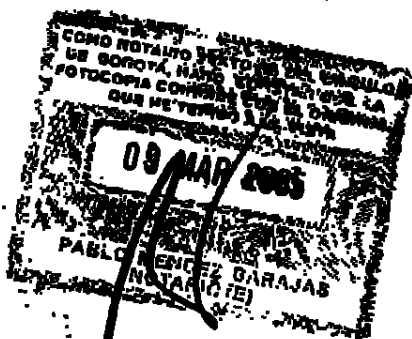
ILSE GREBY

COPENHAGUE, EL 19 JUN 1999
POR EL MINISTRO DE RELACIONES EXTERIORES
P.A.

Inger Helgaard
INGER HELGAARD



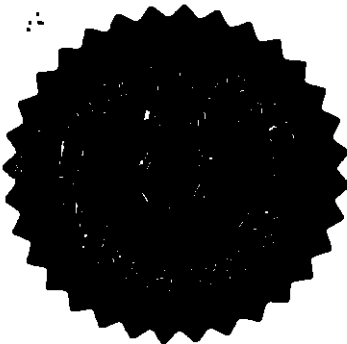
Notary public of Costa Rica
Derechos



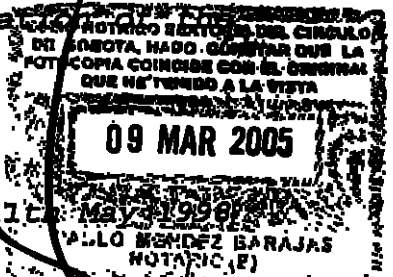
The Danish Commerce and Companies Agency
certifies and attests that

"H. LUNDBECK A/S"
Ottoljavej 7-9
DK-2500 Valby
Denmark

of the municipality of Copenhagen
which company was established 14th October 1950
under registration number A/S 22.472
in the Danish Commerce and Companies Agency incorporated with
limited liability, is legally existing as a Danish Public
Company, limited by shares, and duly registered and incor-
porated under the provisions of the Company Legislation of the
Kingdom of Denmark.



Copenhagen



Pla Sædquist



THE TRUE SIGNATURE OF
P. A. SÆDQVIST
16 MAI 1999
FOR THE MINISTRY OF FOREIGN AFFAIRS.
E. A.
KINGE BLAART

5x 2/8

CONSULADO DE COLOMBIA

No 33-98

El suscrito, Cónsul de Colombia en Copenhague, Dinamarca, vistos los documentos presentados por los interesados,

C E R T I F I C A :

Que la Sra. Inger Elgaard quien autoriza el documento adjunto, ejercía legalmente, en la fecha allí expresada, sus funciones como Funcionario del Ministerio de Relaciones Exteriores de Dinamarca, y que su firma y sellos corresponden a los registrados en este Consulado.

Que la firma H. LUNDBECK A/S. existe legalmente, que ejerce su objeto social de acuerdo a las leyes danesas y que el Sr. John Meidahl Petersen está autorizado para firmar el documento, de acuerdo al Resumen expedido por la Dirección de Industrias y Comercio Nr. A/S 22472, cuya copia se adjunta.

El suscrito Cónsul de Colombia no asume responsabilidad por el contenido del documento.

"Se pagarán en Colombia los impuestos de Timbre que se ocasionen al otorgar en Colombia las obligaciones emanadas del presente documento de conformidad con el artículo 319 del Estatuto tributario."

Copenhague, Junio 23 de 1.998.


CARLOS ARTURO MORALES
Cónsul de Colombia

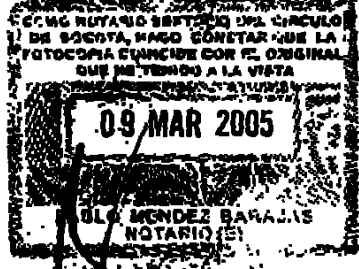
Pagado : Impuesto Timbre USD. 6.00
Derechos Consulares USD: 100.00



NO SE ASUME
RESPONSABILIDAD DEL TEXTO

98 JUL - 1 P.M. 40

JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFÉ DE BOGOTÁ D.C.



MINISTERIO DE RELACIONES
EXTERIORES

651248

CUY INSCRIPCIÓN EN EL
DOCUMENTO DESEMPLEA
LAS FUNCIONES INDICADAS

258 244

TRADUCCIÓN OFICIAL N° 0807981 al español de un documento escrito en inglés, preparada por Jaime Armando Garavito Burgos, Traductor Oficial debidamente reconocido por el Ministerio de Relaciones Exteriores y aprobado por el Ministerio de Justicia de la República de Colombia mediante Resolución N° 034 de enero 11 de 1983

(En la parte superior central de las tres primeras páginas aparece sello redondo en relieve de la Embajada de Colombia en Copenhague, Dinamarca)

(Adherido en la esquina superior izquierda de las dos primeras hojas del documento aparece sello rojo de oblea, junto con sello en tinta del Notario Público de Copenhague, Dinamarca)

Documento escrito en inglés y español, por medio del cual
H. LUNDBECK A/S, otorga poder a favor de **BERNARD GAVELIER**,
GONZALO PERDOMO, **EMILIO FERRERO** y **LUZ CHAVEZ**, dado
y firmado el 11 de junio de 1998 en Copenhague, Dinamarca.

(firmado) John Meidahl Petersen, Departamento de Patentes

CERTIFICACIÓN NOTARIAL (SOCIEDAD) en español referente a la existencia legal de la sociedad H. LUNDBECK A/S y su representante autorizado John Meidahn Petersen, expedida el 11 de junio de 1998 en Copenhague, Dinamarca. (firmado) Ilse Greby, Notario Público (Aparece adherido sello notarial rojo de oblea)

El Ministerio de Relaciones Exteriores en Copenhague,
Dinamarca legaliza la firma de Ilse Greby, Notario Público el
19 de junio de 1998. (firmado) INGER ELGAARD

ERHVERVS- OG SELSKABSSTYRELSEN
ERHVERVSMINISTERIET

(Aparece un símbolo)

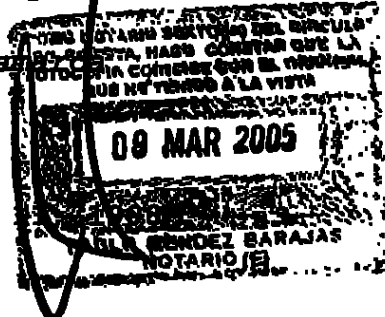
La Agencia Danesa de comercio y Compañías certifica y
atestigua que

"H. LUNDBECK A/S"
Ottiliavej 7-9
DK-2500 Valby
Dinamarca

del municipio de Copenhague, compañía que fue establecida el
14 de octubre de 1950 bajo el número de registro A/S 22.472
en la Agencia Danesa de Comercio y de Compañías constituida
con responsabilidad limitada, existe legalmente como una
Compañía Pública Danesa, limitada por acciones y debidamente
registrada y constituida bajo las disposiciones de la
Legislación de Compañías del Reino de Dinamarca.

(Aparece copia de sello de oblea)

Copenhague, mayo
(firmado)
Pia Sødequist



EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES EN COPENHAGUE,
DINAMARCA CERTIFICA LA FIRMA DE PIA SØDEQUIST el 14 de mayo
de 1998. (firmado) INGER ELGAARD

N° 33-98. EL CONSULADO GENERAL DE COLOMBIA en Copenhague,
Dinamarca, certifica las funciones y firma de Inger Elgaard,
el 23 de junio de 1988. Pagado impuesto de timbre y derechos

260 281

consulares. (firmado) CARLOS ARTURO MORALES, Cónsul de Colombia

EL MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES en Santafé de Bogotá, D.C. certifica la firma y las funciones de Carlos Morales, el 1 de julio de 1998. N° 051248. (firmado) Jefe de Legalizaciones.

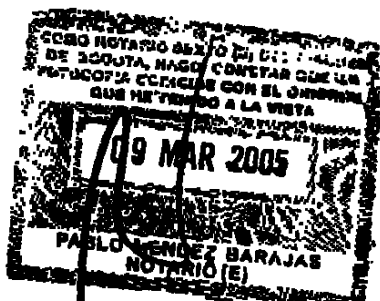
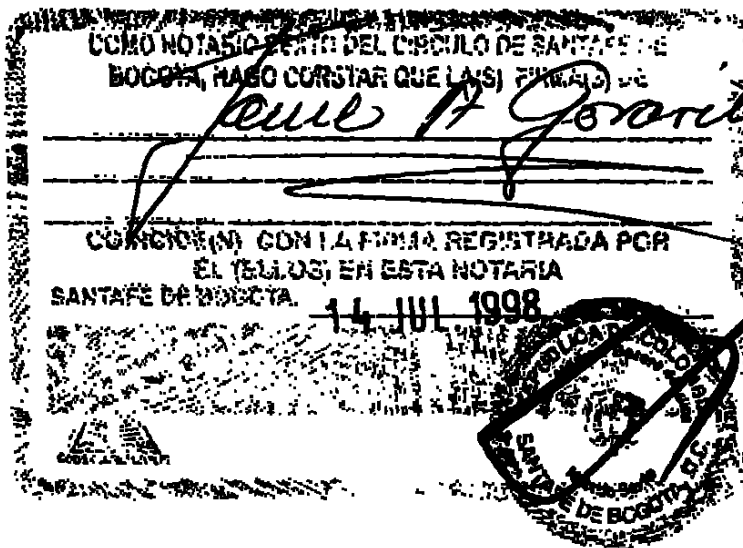
Es traducción fiel y completa de la cual se deja copia en los archivos de esta oficina para su confrontación y a la cual me remito.

Santafé de Bogotá, D.C., julio 8 de 1998

COLO: 3003-801-001-0
WPCL3003- ID # 19

MINISTERIO DE RELACIONES EXTERIORES
NO SE ASUME RESPONSABILIDAD DEL TEXTO
98 JUL 14 PM 12:18
JEFE DE LEGALIZACIONES
SANTAFÉ DE BOGOTÁ D.C.
054833
FIRMA AFIANCE EN EL DOCUMENTO DESEMPEÑANDO LAS FUNCIONES INDICADAS

Jaime A. Garavito B.
JAIME A. GARAVITO B.
TRADUCTOR INTERPRETE OFICIAL
Ces 034 de Enero 11 de 1983
MINISTERIO DE JUSTICIA
BOGOTÁ D.C.
09 MAR 2005
FRANCISCO BARAJAL
NOTARIO(B)



BIENESTAR AMAN 1 AMBA
E2230 0123456789
0421041234567891234

CEBUDJ

BOGOTA 30 30 CUB 1121
10049377

CAVELIER
ABOGADOS

WEB SITE: www.caveller-abogados.com
E-MAIL: caveller@colomsat.net.co

EDIFICIO SISKI
CARRERA 4 No. 72 - 35
BOGOTÁ 8, COLOMBIA

261 2/2
TELEFONO: (57) (1) 347-3611
TELEFAX: (57) (1) 217-9211 (57) (1) 310-4995

Señor Jefe de la
DIVISION DE NUEVAS CREACIONES
Superintendencia de Industria y Comercio
E. S. D.

Poderdante: H. LUNDBECK A/S

Poder conferido el: 11-06-98

Yo, GERMAN CAVELIER, obrando en mi calidad de apoderado principal del poderdante arriba mencionado, atentamente manifiesto a Usted que sustituyo el poder que me ha sido conferido en la persona del doctor EMILIO FERRERO, Abogado con Tarjeta Profesional No. 31.929, con todas las facultades que me fueron conferidas.

Hago la anterior sustitución conforme al artículo 66 del Código de Procedimiento Civil ya que los otros sustitutos faltan en este momento.

Señor Jefe,



GERMAN CAVELIER

T.P.A. No. 832

C.C. No. 2.877.924 de Bogotá

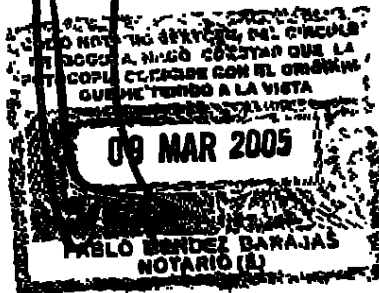
Acepto:



EMILIO FERRERO

T.P.A. No. 31.929

C.C. No. 438.019 de Usaquén



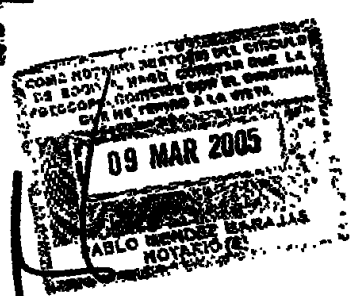
2e-780-2

NOTARIA SEXTA DE COLOMBIA
RECONOCIMIENTO Y PRESENTACION PERSONAL
Bogotá, D. C. 14 AGO. 1998
Año M, PAOLO MENDEZ BARAJAS S.
NOTARIO SEXTO ESPALDADO DEL CIRCULO DE BOGOTÁ
Comparec(s)eron

[Signature]
[Signature]
2899024
638019

832-31929

deportado(s) en Bogotá y declaró(aron) que la(s) firma(s) que
aparece(n) en el presente documento es(san) la(s) suya(s) y
que el contenido del mismo es cierto.
En constancia se firma esta Diligencia.



[Signature]

[Signature]
[Signature]
[Signature]



Expediente No		0502/991	No de Folio
Item		No de unidades	
1	CD		
2	DVD		
3	REVISTA		
4	LIBRO		
5	PERIODICO		
6	DISQUETES		
7	SOBRE DE MANILA		
8	SOBRE BLANCO TAMAÑO CARTA		
9	SOBRE BLANCO TAMAÑO OFICIO		
10	OTROS:		
Observaciones: <i>Acta Final</i>			

263 347

SUPERINTENDENCIA Y COMERCIO
Radicacion : 05021991 00000000 Folios: 2-4
Fecha (ORD): 2005-03-09 17:45:16
Tramite : 011 PCT-PATENT 3/3 FASE NRCI 411 PRESENTING
Dependencia: 2020 DIVISION 3 NUEVAS CREACIONES

NIT : 800176089-2

RECIBO OFICIAL DE CAJA : 5 - 16,942
FECHA : MARZO 7 DE 2005

***** CONSIGNACION *****

REPOSITANTE	TIPO PAGO	BANCO	CUENTA	No. PAGO	FECHA PAGO	Vr. PAGO
CAVELIER ABOGADOS	CONSIGNACION	BANCO POPULAR	050-00110-6	41376754	07/03/2005	25,165,000.00

***** CONCEPTO *****

CANT.	RENTISTICO	CONCEPTO	TOTAL CONCEPTO
1	50005-01-01	SOLICITUDES	
1		TRAMITES DE SOL. DE PATENTE DE IN	443,000.00
		TOTAL :	443,000.00

SON: CUATROCIENTOS CUARENTA Y TRES MIL PESOS

RESPONSABLE : _____

RECIBO DE CAJA APLICADO AL ASUNTO No.

Qdo 03003 - 841-025-1

255 264

REQUISITOS NECESARIOS PARA PRESENTACION Y AGILIZACION DEL
TRAMITE

	USUARIO	RADICADOR
PATENTE DE INVENCION	()	()
- Indicación de que se solicita la concesión de una patente.	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que se presenta la solicitud.	()	()
- Descripción de la invención.	()	()
- Dibujos de ser estos pertinentes.	()	()
- Comprobante de Pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

DISEÑO INDUSTRIAL ()		
- Indicación de que se solicita el registro de Diseño Industrial	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta la solicitud.	()	()
- Representación gráfica o fotográfica del Diseño Industrial o muestra del Material que incorpora el diseño.	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

ESQUEMA DE TRAZADO ()		
- Indicación de que solicita el registro de un Esquema de trazado.	()	()
- Datos de identificación del solicitante o de la persona que presenta La solicitud.	()	()
- Representación gráfica del esquema de trazado	()	()
- Comprobante de pago de las tasas establecidas.	()	()
COMPLETA ()	INCOMPLETA ()	()

Firma Responsable: 

Fecha:

SUPERINTENDENCIA Y CORRELACION
Radicación : 85421721 66000000 Folios: 204
fecha (RMB): 2002-02-09 17:40:16
tramite : 011 PLI-PATENT 375 FASE INCI 411 PRESENTAC
dependencia: 2020 DIVISION DE MARCAS CREACIONES

2020
Bogotá, D.C.,

Doctor(a)
EMILIO FERRERO
Apoderado
H. LUNDBECK A/S.

Oficio N°
12857

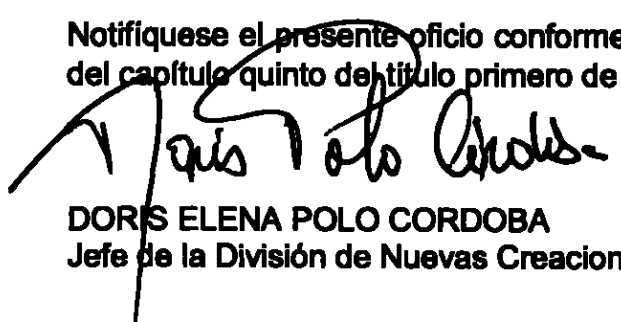
ASUNTO:	Radicación N°	05-21991
	Solicitud internacional	PCT/DK2003/000537
	Fecha inicio fase nacional	12/03/2005
	Trámite	011
	Evento	379
	Actuación	430
	Folios	001

Como resultado del examen de forma, realizado con fundamento en el artículo 38 de la Decisión 486 de la Comisión de la Comunidad Andina, artículo 27 del Tratado de Cooperación en Materia de Patentes (PCT), regla 51 bis del Reglamento y Circular Única de la Superintendencia de Industria y Comercio, se le comunica que:

- La solicitud no contiene la copia del documento en que consta la cesión del derecho a la patente del inventor al solicitante o a su causante. (Art. 26-k Decisión 486).

En cumplimiento de lo dispuesto por el artículo 39 de la Decisión 486, se le requiere para que dentro del término de dos meses siguientes a la fecha de notificación del presente oficio, complete los requisitos anteriormente enunciados. En caso de no dar cumplimiento al presente requerimiento, la solicitud se considerará abandonada y perderá su prelación.

Notifíquese el presente oficio conforme a lo dispuesto en el numeral 5.2, literal e), del capítulo quinto del título primero de la Circular Única N° 10 de 2001.


DORIS ELENA POLO CORDOBA
Jefe de la División de Nuevas Creaciones. (E)

El anterior requerimiento fue notificado por fijación en lista de fecha, 27 MAYO 2005.

202027

Carrera 13 No. 27-00 Piso 5 y 10
Comunifactor: 334 12 21-2-3-4
Fax: 261 31 25 e-mail: info@icc.gov.co
Santa Fe de Bogotá D.C. - Colombia

~~1~~

27 MAY 2005