

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 816 102**

51 Int. Cl.:

**C12P 13/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.11.2017** **E 17202282 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.06.2020** **EP 3486324**

54 Título: **Procedimiento de preparación de aminas a partir de compuestos de carbonilo mediante reacción de transaminasa bajo precipitación de sal**

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:  
**31.03.2021**

73 Titular/es:

**ENZYMICALS AG (50.0%)  
Walther-Rathenau-Strasse 49a  
17489 Greifswald, DE y  
UNIVERSITÄT ROSTOCK (50.0%)**

72 Inventor/es:

**VON LANGERMANN, JAN;  
HÜLSEWEDE, DENNIS;  
TÄNZLER, MARCO;  
MENYES, ULF y  
SÜSS, PHILIPP**

74 Agente/Representante:

**GONZÁLEZ PECES, Gustavo Adolfo**

**ES 2 816 102 T3**

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

## DESCRIPCIÓN

Procedimiento de preparación de aminas a partir de compuestos de carbonilo mediante reacción de transaminasa bajo precipitación de sal

5 La presente invención se refiere a un procedimiento para preparar un compuesto de sal amino que comprende: i) proporcionar un compuesto de carbonilo; ii) hacer reaccionar el compuesto carbonilo proporcionado de acuerdo con (i) en presencia de una transaminasa con ii-a) al menos una amina primaria; y ii-b) al menos un ácido carboxílico; obteniendo de ese modo una mezcla que comprende un compuesto de sal amino al menos parcialmente cristalizado que comprende un catión amino y un anión carboxilato en base a el al menos un ácido carboxílico añadido de acuerdo con (ii-b).

10 Las biotransformaciones se convirtieron en las últimas décadas en una técnica poderosa para la síntesis de compuestos valiosos a escala industrial y de laboratorio. En la presente memoria, las transaminasas (TA) dependientes de piridoxal 5'-fosfato (PLP) y especialmente las amina transaminasas (ATA) han ganado en los últimos años un impacto significativo en la síntesis de aminas ópticamente puras, que son componentes valiosos para diversos agroquímicos e ingredientes farmacéuticos activos, por ejemplo, sitagliptina. Estas enzimas básicamente catalizan la desaminación de una amina primaria (donante de amina) con una aminación simultánea de un aldehído o cetona (receptor de amina). La reacción de transaminación se puede llevar a cabo como una resolución cinética de una amina racémica o una síntesis asimétrica a partir de la cetona proquiral respectiva. Debido a un rendimiento máximo del 100 %, en teoría se prefiere la síntesis asimétrica, especialmente si se usa un catalizador con alta enantioselectividad. Desafortunadamente, las limitaciones termodinámicas y ciertas inhibiciones del producto tienden a limitar la aplicabilidad de transaminasas en la síntesis asimétrica, que debe superarse con fines sintéticos. Además del uso de un exceso antieconómico del donante de amina, actualmente se consideran técnicas de eliminación de coproductos complejos, por ejemplo, cascadas enzimáticas, procesos de membrana y reacciones secundarias no catalíticas. Desafortunadamente, tales técnicas siempre aumentan (en general) la complejidad general de los sistemas de reacción biocatalítica, requieren cosustratos adicionales o hechos a medida y generan más subproductos.

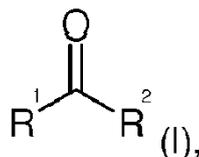
Por tanto, el objeto de la presente invención era proporcionar un procedimiento para la preparación de una amina producida deseada mediante biotransformación, especialmente usando una transaminasa, que supera los inconvenientes mencionados anteriormente.

30 Las enzimas a las que se hace referencia a continuación se conocen, por ejemplo, del documento WO 2011/026556 (SEQ ID NOS 1-4 presentes y enzimas estrechamente relacionadas con las SEQ ID NOS 5-6) y UniParc - UPI0009F6A547 (SEQ 6 presente).

Además, Buque-Taboada et al, Applied Microbiology and Biotechnology; 2006, páginas 1-12, divulgan los principios básicos de la recuperación del producto *in situ* mediante cristalización.

El objeto se resolvió mediante un procedimiento para preparar un compuesto de sal amino que comprende:

35 i) proporcionar un compuesto de carbonilo de fórmula general (I)



en la que

40 R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, alquino C2-C20 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalqueno C5-C20, cicloalquino C5-C20, arilo C5-C20, alquilarilo C6-C20, arilalquilo C6-C20, heteroalquilo C2-C20, heteroalquilo cíclico C3-C20, heteroarilo C4-C20, alquilheteroarilo C5-C20 y heteroarilalquilo C5-C20, en el que, en el caso de más de un sistema de anillo (hetero)alifático o (hetero)aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3; y

50 R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en un átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, arilo C5-C10, alquilarilo C6-C10 y arilalquilo C6-C10, en el que en caso de más de un sistema de anillo aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>2</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>2a</sup>

seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3; o

5 R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> juntos forman un cicloalquilo C3-C10 o cicloalqueno C3-C10, en el que el cicloalquilo C3-C10 o el cicloalqueno C3-C10 tienen cada uno al menos un sustituyente R<sup>x</sup> seleccionado del grupo que consiste en un átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5, heteroalquilo C1-C4 y alquilo C1-C5-R<sup>y</sup>, en el que R<sup>y</sup> es hidroxilo o tiol;

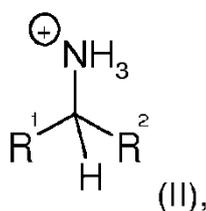
ii) hacer reaccionar el compuesto carbonilo proporcionado de acuerdo con (i) en la presencia de una transaminasa con

ii-a) al menos una amina primaria; y

ii-b) al menos un ácido carboxílico;

10 obteniendo así una mezcla que comprende un compuesto de sal amino al menos parcialmente cristalizado que comprende

- un catión de fórmula general (II)



en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son como se definen para la fórmula general (I) y

15 - un anión carboxilato en base a el al menos un ácido carboxílico añadido de acuerdo con (ii-b); en el que el al menos un ácido carboxílico de acuerdo con (ii-b) es un ácido carboxílico de fórmula general (III) a continuación (ver ácido carboxílico).

20 La expresión "compuesto de sal amino" comprende un catión y un anión como se describió anteriormente. El compuesto de sal amino puede estar presente como compuesto de sal pura (sin solvatar, anhidratado) o como solvato o hidrato o una mezcla de estos, en el que hidrato incluye hemihidrato, monohidrato y polihidrato y solvato incluye hemisolvato, monosolvato y polisolvato. "Al menos parcialmente cristalizado" significa que al menos el 50 %, preferiblemente al menos el 60 %, más preferiblemente al menos el 70 %, más preferiblemente al menos el 80 %, más preferiblemente al menos el 90 % del compuesto de sal de amina se precipita en forma cristalina.

25 La palabra "hetero" significa que está presente heteroátomo o heteroátomos, que se seleccionan del grupo que consiste en átomo de nitrógeno, átomo de azufre y átomo de oxígeno, si no se indica lo contrario. El heteroátomo o heteroátomos están presentes como miembros de la respectiva estructura de cadena o anillo.

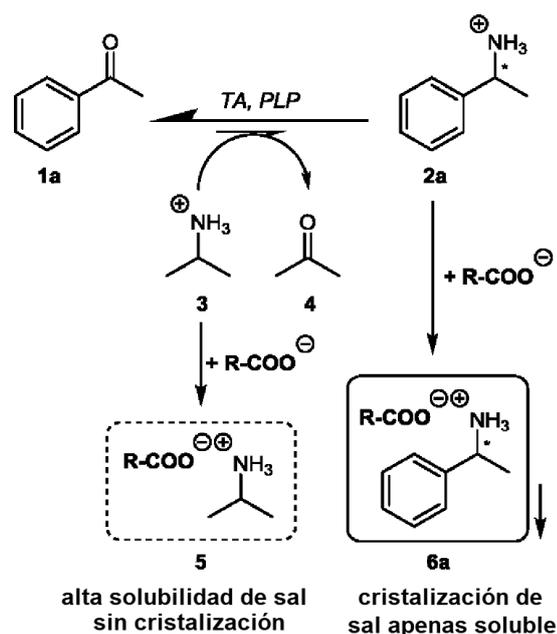
Los residuos R<sup>1a</sup>, R<sup>2a</sup> son como se definieron anteriormente. Hay que señalar que ni R<sup>1a</sup> ni R<sup>2a</sup> son sustituyentes que comprenden una carga, es decir, los sustituyentes que tienen una carga se excluyen como R<sup>1a</sup> y como R<sup>2a</sup>. Por ejemplo, R<sup>1a</sup> y también R<sup>2a</sup> no son carboxilo/carboxilato, ni fosfato, ni sulfonato.

30 En una realización preferida, se excluye la combinación de R<sup>1</sup>, siendo R<sup>1a</sup> un alquilo perfluorado. Lo mismo se aplica a R<sup>2</sup> y R<sup>2a</sup>, es decir, también se excluye la combinación de R<sup>2</sup> y R<sup>2a</sup> que es un alquilo perfluorado. En otras palabras, ni la combinación de R<sup>1</sup> y R<sup>1a</sup> ni la combinación de R<sup>2</sup> y R<sup>2a</sup> es un alquilo perfluorado.

Con respecto a la realización en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> forman juntos un cicloalquilo C3-C10 o un cicloalqueno C3-C10, el número de átomos de C indicado incluye el átomo de carbonilo C situado entre R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>.

35 Con este procedimiento como se describió anteriormente, los inventores ahora presentan un enfoque en base a cristalización para la eliminación directa de la amina producida deseada de una reacción catalizada por transaminasas. El esquema 1 muestra el procedimiento en base al producto ejemplar amina 1-feniletilamina. El producto amina 2 se cristaliza selectivamente en la presente memoria a partir de solución como una sal 6 de amina apenas soluble, mientras que todos los demás reactivos, especialmente la amina donante aplicada (isopropilamina, 3), permanecen en solución. Esta cristalización del producto *in situ* (ISPC) elimina continuamente la amina producida deseada de la solución y, por lo tanto, produce un desplazamiento de equilibrio hacia los productos. El contraión (aquí mostrado como un carboxilato) se agrega directamente a la solución de reacción y puede aislarse para su reutilización a partir de la sal sólida formada. No se requiere un uso estequiométrico del carboxilato en comparación con las aminas aplicadas (ver más abajo).

40



**Esquema 1:** Combinación de una cristalización del producto *in situ* (ISPC) con una reacción catalizada por transaminasa para producir una sal 1-feniletilamina apenas soluble; la protonación de reactivos mostrada se basa en una solución acuosa a pH 7,5; TA= transaminasa, PLP = piroxidal 5'-fosfato, R = residuo ejemplar que representa un residuo adecuado que contiene carbono.

Primero, el principal requisito de este concepto es la elección de un contraión específico, es decir, un ácido carboxílico específico, que genera una sal apenas soluble con la amina diana para su cristalización, mientras que la sal de amina donante no se cristaliza. Desafortunadamente, las sales de amina más comúnmente utilizadas, especialmente las sales de haluro de amina, muestran solubilidades muy altas en soluciones acuosas y, por lo tanto, no son aplicables para tal concepto de ISPC. Por lo tanto, una realización preferida del procedimiento es que el compuesto de sal amino obtenido de acuerdo con (ii) tiene una solubilidad en agua a pH 7 que es menor que la solubilidad en agua de la al menos una amina primaria añadida de acuerdo con (ii-a). Otra realización preferida del procedimiento es que el compuesto de sal amino obtenido de acuerdo con (ii) tiene una solubilidad en agua a pH 7  $\leq$  30 mmol/l, preferiblemente  $\leq$  25 mmol/l, más preferiblemente  $\leq$  10 mmol/l.

De acuerdo con una realización preferida, la diferencia de solubilidad ( $\Delta_{\text{sol}}$ ) entre la solubilidad de la sal de la amina primaria y la solubilidad del compuesto de la sal amino es al menos 10 mmol/l. Como se explicó anteriormente, la solubilidad de la sal de la amina primaria ( $\text{sol.}_{\text{sal de amina primaria}}$ ) es más alta que la solubilidad del compuesto de sal amino ( $\text{sol.}_{\text{compuesto de sal amino}}$ ), es decir:

$$(\text{sol.}_{\text{sal de amina primaria}}) > (\text{sol.}_{\text{compuesto de sal amino}})$$

Segundo, la transaminasa utilizada debe tolerar la concentración requerida del compuesto elegido. Tercero, la sal formada debe ser estable bajo las condiciones de proceso y debe recuperarse fácilmente de la mezcla de reacción.

Ácido carboxílico

De acuerdo con la etapa (ii), el compuesto de carbonilo proporcionado de acuerdo con (i) se hace reaccionar en la presencia de una transaminasa con ii-a) al menos una amina primaria; y ii-b) al menos un ácido carboxílico.

Con respecto al ácido carboxílico que se utilizará para (ii-b), se seleccionaron ácidos carboxílicos alifáticos, aromáticos y heteroaromáticos (R-COOH) comercialmente disponibles y se cribaron como sus respectivas sales de carboxilato hacia aminas comunes de una reacción catalizada por transaminasas. La 1-feniletilamina y los derivados sustituidos 2a-f de esta sirvieron como aminas producidas modelo y se compararon con aminas donantes típicas tales como isopropilamina 3, 2-butilamina racémica, DL-alanina y L-alanina (ver la sección de Ejemplos para más detalles). Aquí, la sal de la amina producida necesita exhibir una solubilidad significativamente menor que su contraparte de sal de amina donante ya que la amina donante todavía se aplica con un exceso.



R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en un átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, arilo C5-C10, alquilarilo C6-C10 y arilalquilo C6-C10, en el que en el caso de más de un sistema de anillo aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>2a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3.

Más preferiblemente, el residuo R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, alquino C2-C20 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalqueno C5-C20, cicloalquino C5-C20, arilo C5-C20, alquilarilo C6-C20, arilalquilo C6-C20, heteroalquilo C2-C20, heteroalquilo cíclico C3-C20, heteroarilo C4-C20, alquilheteroarilo C5-C20 y heteroarilalquilo C5-C20, en el que el heteroátomo o heteroátomos en heteroarilo C4-C20, alquilheteroarilo C5-C20 y heteroarilalquilo C5-C20 es/son oxígeno o azufre y el heteroátomo o heteroátomos en heteroalquilo C2-C20 y heteroalquilo cíclico C3-C20, se selecciona de oxígeno, azufre y nitrógeno, en el que en el caso de más de un sistema de anillo (hetero)alifático o (hetero)aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3.

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento, el residuo R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, alquino C2-C20 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalqueno C5-C20, cicloalquino C5-C20, arilo C5-C20, alquilarilo C6-C20, arilalquilo C6-C20, heteroalquilo C2-C20, heteroalquilo cíclico C3-C20, en el que el heteroátomo o heteroátomos se selecciona de oxígeno, azufre y nitrógeno en el que, en el caso de más de un sistema de anillo alifático o aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3. De acuerdo con otra realización preferida del procedimiento, el residuo R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, alquino C2-C20 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalqueno C5-C20, cicloalquino C5-C20 y arilo C5-C20, en el que en el caso de más de un sistema de anillo alifático o aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3. De acuerdo con una realización más preferida del procedimiento, el residuo R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C5-C10 y arilo C5-C20, en el que en el caso de más de un sistema de anillo alifático o aromático los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3; R<sup>1</sup> se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en metilo, isopropilo, ciclohexilo y fenilo, en el que fenilo tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, preferiblemente flúor o cloro, y metoxi, preferiblemente meta- o para-metoxi.

Para que R<sup>1</sup> sea alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado o alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, una realización preferida se refiere a que R<sup>1</sup> sea alquilo C4-C20 ramificado o no ramificado o alqueno C4-C20 ramificado o no ramificado.

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento, el residuo R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en un átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, en el que cada residuo R<sup>2</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>2a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3. De acuerdo con otra realización preferida del procedimiento, el residuo R<sup>2</sup> se selecciona del grupo de alquilo C1-C3 ramificado o no ramificado, siendo R<sup>2</sup> preferiblemente metilo.

#### Transaminasa

De acuerdo con la etapa (ii), el compuesto de carbonilo proporcionado de acuerdo con (i) se hace reaccionar en la presencia de una transaminasa. Preferiblemente, la transaminasa de acuerdo con (ii) se selecciona del grupo de transaminasas, preferiblemente del grupo de amina transaminasas, más preferiblemente seleccionado del grupo que consiste en amina transaminasa de *Aspergillus fumigates* (AfATA) de acuerdo con la SEQ ID NO 1, amina transaminasa de *Gibberella zeae* (GzATA) de acuerdo con la SEQ ID NO 2, amina transaminasa de *Neosartorya fischeri* (NfATA) de acuerdo con la SEQ ID NO 3, amina transaminasa de *Aspergillus oryzae* (AoATA) de acuerdo con la SEQ ID NO 4, amina transaminasa de *Aspergillus terreus* (AtATA) de acuerdo con la SEQ ID NO 5, amina transaminasa de *Mycobacterium vanbaalenii* (MvATA) de acuerdo con la SEQ ID NO 6, amina transaminasa de *Silicibacter pomeroyi* (SpATA) de acuerdo con la SEQ ID NO 7 y una enzima homóloga que tiene una identidad de secuencia de al menos 65 % con cualquiera de las SEQ ID NO 1 a 7 y que tiene la misma función que la amina transaminasa de las SEQ ID NO 1 a 7, más preferiblemente seleccionada del grupo que consiste en la amina transaminasa de *Mycobacterium vanbaalenii* (MvATA) de acuerdo con la SEQ ID NO 6, la amina transaminasa de *Silicibacter pomeroyi* (SpATA) de acuerdo con la SEQ ID NO 7 y una enzima homóloga que tiene una identidad de

secuencia de al menos 65 % con una cualquiera de las SEQ ID NO 6 o 7 y que tiene la misma función que la amina transaminasa de las SEQ ID NO 6 o 7. La Tabla 1 muestra una descripción general de las amina transaminasas preferidas:

**Tabla 1:** Amina transaminasas de las SEQ ID Nos 1 a 7

Nombre	Abreviatura	SEQ ID NO.	No. de acceso NCBI*	No. de acceso GenBank*
amina transaminasa de <i>Aspergillus fumigates</i>	AfATA	1	XP_748821.1	
amina transaminasa de <i>Gibberella zeae</i>	GzATA	2	XP_011317603.1	
amina transaminasa de <i>Neosartorya fischeri</i>	NfATA	3	XP_001261640.1	
amina transaminasa de <i>Aspergillus oryzae</i>	AoATA	4		BAE56564.1
amina transaminasa de <i>Aspergillus terreus</i>	AtATA	5	XP_001209325.1	
amina transaminasa de <i>Mycobacterium vanbaalenii</i>	MvATA	6	WP_083062280.1	
amina transaminasa de <i>Silicibacter pomeroyi</i>	SpATA	7	WP_011049154.1	
* Banco de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica ( <a href="https://www.ncbi.nlm.nih.gov/">https://www.ncbi.nlm.nih.gov/</a> ), estado: 24 de octubre de 2017				

5

La expresión "que tiene la misma función que la amina transaminasa de una cualquiera de las SEQ ID NO. 1 a 7" significa que la enzima homóloga cataliza una reacción de amina transaminasa al menos con una efectividad del 90 % como la transaminasa de una cualquiera de las SEQ ID NO. 1 a 7. Preferiblemente, la enzima homóloga tiene una identidad de secuencia de al menos 75 %, preferiblemente al menos 85 %, más preferiblemente al menos 90 %, más preferiblemente al menos 95 %, más preferiblemente al menos 98 %, más preferiblemente al menos 99 %, con una cualquiera de las SEQ ID NO 1 a 7 y tiene la misma función que la amina transaminasa de las SEQ ID NO 1 a 7.

10

Amina primaria

De acuerdo con la etapa (ii), el compuesto de carbonilo proporcionado de acuerdo con (i) se hace reaccionar en la presencia de una transaminasa con ii-a) al menos una amina primaria; y ii-b) al menos un ácido carboxílico. Preferiblemente, la al menos una amina primaria de acuerdo con (ii-a) se usa en forma no protonada o en forma protonada con un contraanión adecuado.

15

De acuerdo con una realización preferida del procedimiento, la al menos una amina primaria de acuerdo con (ii-a) se selecciona del grupo de mono y diaminas que tienen de uno a 10 átomos de carbono, preferiblemente del grupo que consta de 1,5-diamino-pentano (cadaverina), alanina, 2-aminobutano (sec-butilamina) y 2-amino-propano, y es preferiblemente 2-aminopropano (isopropilamina) en su forma no protonada o protonada, en la que la forma protonada está presente en combinación con un anión adecuado.

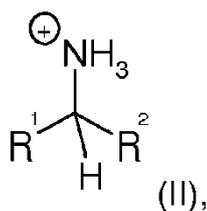
20

De acuerdo con una realización más preferida del procedimiento, la al menos una amina primaria de acuerdo con (ii-a) y el al menos un ácido carboxílico de acuerdo con (ii-b) se utilizan como una o más sal o sales que comprende la forma protonada de la al menos una amina primaria y la forma desprotonada del al menos un ácido carboxílico, preferiblemente como una sal que comprende la forma protonada de la al menos una amina primaria y la forma desprotonada del al menos un ácido carboxílico, más preferiblemente como 3,3-difenilpropionato de isopropilamonio.

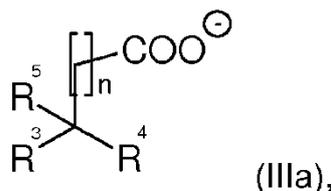
25

Compuesto de sal amino

De acuerdo con la etapa (ii), se obtiene un compuesto de sal amino. El compuesto de sal amino obtenido de acuerdo con (ii) comprende un catión de fórmula general (II)



en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son como se definen para la fórmula general (I), y un anión en base al al menos un ácido carboxílico, que es un anión de fórmula general (IIIa)



5 en la que n es cero o 1;

los residuos R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son ambos fenilo o juntos forman un anillo de fenilo, en el que cada anillo de fenilo tiene al menos un sustituyente adicional seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, preferiblemente cloro y grupo nitro y el residuo R<sup>5</sup> es un átomo de hidrógeno o metilo o ausente si R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> juntos forman un anillo de fenilo; en el que el anión de fórmula general (IIIa) se selecciona preferiblemente del grupo que  
10 consiste en difenilacetato, 2,2-difenilpropionato, 3,3-difenilpropionato, 3,4-dicloro-benzoato, 3,4-dinitro-benzoato y 4-cloro-3-nitro-benzoato, más preferiblemente forman el grupo que consiste en difenilacetato, 2,2-difenilpropionato, 3,3-difenilpropionato, más preferiblemente 2,2-difenilpropionato o 3,3-difenilpropionato, más preferiblemente 3,3-difenilpropionato.

#### Condiciones de reacción adicionales

15 De acuerdo con una realización preferida del procedimiento, la reacción de acuerdo con (ii) se lleva a cabo en una solución acuosa, que preferiblemente comprende al menos 80 % en peso, más preferiblemente al menos 90 % en peso, más preferiblemente al menos 95 % en peso, más preferiblemente al menos 98 % en peso de agua, en base al peso total de la solución acuosa. La solución acuosa comprende preferiblemente un tampón, preferiblemente seleccionado del grupo de tampón tris (hidroximetil)aminometano (tampón TRIS), tampón de ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico (tampón MOPS), tampón de ácido N,N-Bis(2-hidroxietilo)-2-aminoetanosulfónico (tampón  
20 BES), tampón de N-(tris(hidroximetil)metil)-glicina (tampón de Tricina), tampón de carbonato, tampón de ácido N-ciclohexil-2-aminoetanosulfónico (tampón de CHES), tampón de ácido 4-(2-hidroxietil)-1-piperazinaetanosulfónico (tampón HEPES) y tampón fosfato, más preferiblemente al menos un tampón fosfato.

25 De acuerdo con otra realización preferida del procedimiento, la reacción de acuerdo con (ii) se lleva a cabo a un valor de pH en el intervalo de 6,0 a 9,5, más preferiblemente en el intervalo de 6,5 a 9,0, más preferiblemente en el intervalo de 7,0 a 8,0. De acuerdo con otra realización preferida del procedimiento, la reacción de acuerdo con (ii) se lleva a cabo durante un período de tiempo de al menos una hora, más preferiblemente durante un tiempo en el intervalo de 1 a 1000 horas, más preferiblemente en el intervalo de 5 a 500 horas, más preferiblemente en el intervalo de 10 a 200 horas. De acuerdo con otra realización preferida del procedimiento, la reacción de acuerdo con  
30 (ii) se lleva a cabo a una temperatura en el intervalo de 10 a 50 ° C, más preferiblemente en el intervalo de 15 a 45 ° C, más preferiblemente en el intervalo de 20 a 40 ° C, más preferiblemente en el intervalo de 25 a 35 ° C.

De acuerdo con otra realización preferida del procedimiento, siendo el al menos un ácido carboxílico un ácido carboxílico de acuerdo con la fórmula general (III), en la que los residuos R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> juntos forman un anillo de fenilo, preferiblemente un ácido carboxílico seleccionado del grupo que consiste en ácido 3,4-dicloro-benzoico (34CA),  
35 ácido 3,4-dinitro-benzoico (34NA) y ácido 4-cloro-3-nitro-benzoico (43CNA), la concentración del al menos un ácido carboxílico se mantiene en el intervalo de 0,001 a 50 mM, preferiblemente en el intervalo de 1 a 45 mM, más preferiblemente en el intervalo de 5 a 40 mM durante la etapa (ii). De acuerdo con otra realización preferida del procedimiento, siendo el al menos un ácido carboxílico un ácido carboxílico de acuerdo con la fórmula general (III), en la que los residuos R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son cada uno un anillo fenilo, preferiblemente un ácido carboxílico seleccionado del grupo que consiste en ácido difenilacético (DPAA), ácido 2,2-difenilpropiónico (2DPPA) y ácido 3,3-difenilpropiónico (3DPPA), la concentración del al menos un ácido carboxílico es ≤50 mM durante la etapa (ii).  
40

#### Otras etapas de reacción

Como se describió anteriormente, el procedimiento comprende las etapas de reacción (i) y (ii). De acuerdo con una realización preferida, el procedimiento comprende además:

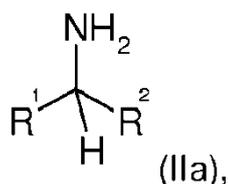
iii) separar el compuesto de sal de amina al menos parcialmente cristalizado obtenido de acuerdo con (ii) de la mezcla obteniendo así el compuesto de sal de amina cristalizado.

Preferiblemente, la separación del compuesto de sal de amina cristalizada de acuerdo con (iii) de la mezcla se realiza mediante sedimentación, centrifugación o filtración, preferiblemente mediante filtración.

5 De acuerdo con una realización preferida, el procedimiento comprende además, preferiblemente además de (i), (ii) y (iii):

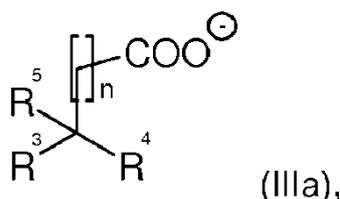
(iv) opcionalmente lavar el compuesto de sal de amino cristalizado separado obtenido de acuerdo con (iii), preferiblemente con agua o un disolvente orgánico o una mezcla de estos, más preferiblemente con agua o metil tert-butil éter o una mezcla de estos, obteniendo así un compuesto de sal amino cristalizado lavado;

10 (v) disolver el compuesto de sal amino cristalizado obtenido de acuerdo con (iii) u opcionalmente el compuesto de sal amino cristalizado lavado obtenido de acuerdo con (iv) en una solución acuosa que tiene un valor de pH en el intervalo de 10 a 14 que comprende al menos una base, preferiblemente una base que comprende un ión hidróxido, obteniendo así una solución acuosa que comprende una amina de fórmula general (IIa)



15 en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son como se definen para la fórmula general (I);

(vi) extraer la solución acuosa obtenida de acuerdo con (v) al menos una vez con un disolvente orgánico inmiscible en agua obteniendo una fase orgánica que comprende al menos partes de la amina de fórmula general (IIa); y una fase acuosa que comprende al menos partes del anión de fórmula general (IIIa)



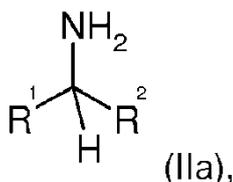
20 en la que n es cero o 1; y en la que los residuos R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son ambos fenilo o juntos forman un anillo de fenilo, en la que cada anillo de fenilo tiene al menos un sustituyente adicional seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, preferiblemente del cloro y grupo nitro y el residuo R<sup>5</sup> es átomo de hidrógeno o metilo o está ausente si R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> juntos forman un anillo de fenilo;

25 en la que el anión de fórmula general (IIIa) se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en difenilacetato, 2,2-difenilpropionato, 3,3-difenilpropionato, 3,4-dicloro-benzoato, 3,4-dinitro-benzoato y 4-cloro-3-nitrobenzoato, más preferiblemente del grupo que consiste en difenilacetato, 2,2-difenilpropionato, 3,3-difenilpropionato, más preferiblemente 2,2-difenilpropionato o 3,3-difenilpropionato, más preferiblemente 3,3-difenilpropionato.

30 El disolvente orgánico inmiscible en agua de acuerdo con (vi) tiene preferiblemente un valor Kow de al menos 0,5, más preferiblemente de al menos 0,6, más preferiblemente de al menos 0,7, más preferiblemente de al menos 0,8. De acuerdo con una realización preferida, el disolvente orgánico inmiscible en agua de acuerdo con (vi) se selecciona del grupo de éteres, más preferiblemente del grupo de éteres alifáticos, más preferiblemente MTBE (metil-tert-butiléter).

35 De acuerdo con una realización preferida adicional, el procedimiento comprende además, preferiblemente además de (i), (ii), (iii), (iv), (v) y (vi):

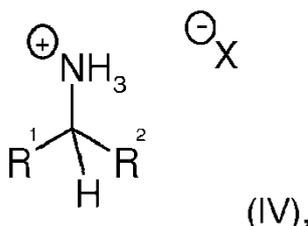
(vii-a) eliminación del disolvente orgánico inmiscible en agua de la fase orgánica obtenida en (vi) obteniendo así la amina de fórmula general (IIa),



en la que  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$  son como se definen para la fórmula general (I).

De acuerdo con una realización alternativa preferida, el procedimiento comprende además, preferiblemente además de (i), (ii), (iii), (iv), (v) y (vi):

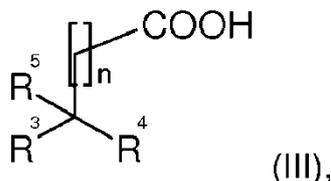
- 5 (vii-b) añadir al menos un ácido HX a la fase orgánica obtenida de acuerdo con (vi), preferentemente HCl, obteniendo así una sal de fórmula general (IV)



en la que  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$  son como se definen para la fórmula general (I) y (II) y X es un ión a base de el al menos un ácido HX, preferiblemente Cl.

- 10 De acuerdo con una realización alternativa preferida, el procedimiento comprende además, preferiblemente además de (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) y (vii-a) o además de (i), (ii), (iii), (iv), (v), (vi) y (vii-b):

(viii) precipitar opcionalmente el al menos un ácido carboxílico de fórmula general (III)



en la que

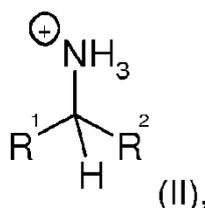
- 15 n es cero o 1;

los residuos  $\text{R}^3$  y  $\text{R}^4$  son ambos fenilo o juntos forman un anillo de fenilo, en el que cada anillo de fenilo tiene al menos un sustituyente adicional seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, preferiblemente cloro y grupo nitro y el residuo  $\text{R}^5$  es átomo de hidrógeno o metilo o ausente si  $\text{R}^3$  y  $\text{R}^4$  juntos forman un anillo de fenilo; preferiblemente, el al menos un ácido carboxílico se selecciona del grupo que consiste en ácido difenilacético (DPAA), ácido 2,2-difenilpropiónico (2DPPA), ácido 3,3-difenilpropiónico (3DPPA), ácido 3,4-dicloro-benzoico (34CA), ácido 3,4-dinitro-benzoico (34NA) y ácido 4-cloro-3-nitro-benzoico (43CNA), más preferiblemente forman el grupo que consiste en ácido difenilacético (DPAA), ácido 2,2-difenilpropiónico (2DPPA) y ácido 3,3-difenilpropiónico (3DPPA), más preferiblemente ácido 2,2-difenilpropiónico (2DPPA) o ácido 3,3-difenilpropiónico (3DPPA), más preferiblemente al menos 3DPPA, de la fase acuosa obtenida de acuerdo con (vi) por ajustar el pH a un valor en el intervalo de 0 a 6, preferiblemente mediante la adición de HCl, y

- 25 (ix) opcionalmente reciclar el al menos un ácido carboxílico precipitado de acuerdo con (viii) al proceso, preferiblemente a la etapa (ii).

En otro aspecto, la presente invención se refiere a un compuesto de sal amino que comprende

- 30 • un catión de fórmula general (II)



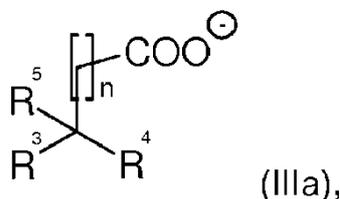
en la que

R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, alquino C2-C20 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalqueno C5-C20, cicloalquino C5-C20, arilo C5-C20, alquilarilo C6-C20, arilalquilo C6-C20, heteroalquilo C2-C20, heteroalquilo cíclico C3-C20, heteroarilo C4-C20, alquilheteroarilo C5-C20 y heteroarilalquilo C5-C20, en el que, en el caso de más de un sistema de anillo (hetero)alifático o (hetero)aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3; y

R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, arilo C5-C10, alquilarilo C6-C10 y arilalquilo C6-C10, en el que en el caso de más de un sistema de anillo alifático o aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>2</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>2a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3; o

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> juntos forman un cicloalquilo C3-C10 o cicloalqueno C3-C10, en el que el cicloalquilo C3-C10 o el cicloalqueno C3-C10 tienen cada uno al menos un sustituyente R<sup>x</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5, heteroalquilo C1-C4 y alquilo C1-C5-R<sup>y</sup>, en el que R<sup>y</sup> es hidroxilo o tiol; y

• un anión de fórmula general (IIIa)



en la que

n es cero o 1;

los residuos R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son ambos fenilos o juntos forman un anillo de fenilo, en el que cada anillo de fenilo tiene al menos un sustituyente adicional seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, preferiblemente cloro y grupo nitro y el residuo R<sup>5</sup> es átomo de hidrógeno o metilo o ausente si R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> juntos forman un anillo de fenilo.

Preferiblemente, el anión de fórmula general (IIIa) del compuesto de sal de amina se selecciona del grupo que consiste en difenilacetato, 2,2-difenilpropionato, 3,3-difenilpropionato, 3,4-dicloro-benzoato, 3,4-dinitro-benzoato y 4-cloro-3-nitro-benzoato, más preferiblemente del grupo que consiste en difenilacetato, 2,2-difenilpropionato, 3,3-difenilpropionato, más preferiblemente 2,2-difenilpropionato o 3,3-difenilpropionato, más preferiblemente 3,3-difenilpropionato.

De acuerdo con una realización preferida del compuesto de sal amino,

R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, alquino C2-C20 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalqueno C5-C20, cicloalquino C5-C20, arilo C5-C20, alquilarilo C6-C20, arilalquilo C6-C20, heteroalquilo C2-C20, heteroalquilo cíclico C3-C20, heteroarilo C4-C20, alquilheteroarilo C5-C20 y heteroarilalquilo C5-C20, en el que en el caso de más de un sistema de anillo (hetero)alifático o (hetero)aromático, los sistemas de anillo están condensados o por separado, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3; y

5 R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, arilo C5-C10, alquilarilo C6-C10 y arilalquilo C6-C10, en el que en el caso de más de un sistema de anillo alifático o aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>2</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>2a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3.

10 Más preferiblemente, el residuo R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, alquino C2-C20 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalqueno C5-C20, cicloalquino C5-C20, arilo C5-C20, alquilarilo C6-C20, arilalquilo C6-C20, heteroalquilo C2-C20, heteroalquilo cíclico C3-C20, heteroarilo C4-C20, alquilheteroarilo C5-C20 y heteroarilalquilo C5-C20, en el que el heteroátomo o heteroátomos en heteroarilo C4-C20, alquilheteroarilo C5-C20 y heteroarilalquilo C5-C20 es oxígeno o azufre y el heteroátomo o heteroátomos en heteroalquilo C2-C20 y heteroalquilo cíclico C3-C20, se selecciona de oxígeno, azufre y nitrógeno, en el que en el caso de más de un sistema de anillo (hetero)alifático o (hetero)aromático los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3. De acuerdo con otra realización preferida del compuesto de sal amino, el residuo R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, alquino C2-C20 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalqueno C5-C20, cicloalquino C5-C20, arilo C5-C20, alquilarilo C6-C20, arilalquilo C6-C20, heteroalquilo C2-C20, heteroalquilo cíclico C3-C20, en el que en el caso de más de un sistema de anillo alifático o aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene en al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3. De acuerdo con otra realización preferida del compuesto de sal amino, el residuo R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, alquino C2-C20 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalqueno C5-C20, cicloalquino C5-C20, arilo C5-C20, en el que en el caso de más de un sistema de anillo alifático o aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3. De acuerdo con otra realización preferida del compuesto de sal amino, el residuo R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C5-C10 y arilo C5-C20, en el que en el caso de más de uno sistema de anillo alifático o aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3; R<sup>1</sup> se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en metilo, isopropilo, ciclohexilo y fenilo, en el que fenilo tiene al menos un sustituyente seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, preferiblemente flúor o cloro, y metoxi, preferiblemente meta- o para-metoxi.

40 Para que R<sup>1</sup> sea alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado o alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, una realización preferida se refiere a que R<sup>1</sup> sea alquilo C4-C20 ramificado o no ramificado o alqueno C4-C20 ramificado o no ramificado.

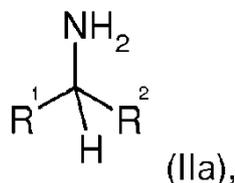
45 De acuerdo con una realización preferida del compuesto de sal amino, el residuo R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en un átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, en el que cada residuo R<sup>2</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>2a</sup> seleccionado del grupo que consta de átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3. Preferiblemente, el residuo R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C1-C3 ramificado o no ramificado, siendo R<sup>2</sup> preferiblemente metilo.

En una realización preferida, se excluye la combinación de R<sup>1</sup>, siendo R<sup>1a</sup> un alquilo perfluorado. Lo mismo se aplica a R<sup>2</sup> y R<sup>2a</sup>, es decir, también se excluye la combinación de R<sup>2</sup> y R<sup>2a</sup> que es un alquilo perfluorado. En otras palabras, ni la combinación de R<sup>1</sup> y R<sup>1a</sup> ni la combinación de R<sup>2</sup> y R<sup>2a</sup> es un alquilo perfluorado.

50 Con respecto a la realización en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> forman juntos un cicloalquilo C3-C10 o un cicloalqueno C3-C10, el número de átomos de C indicado incluye el átomo de carbonilo C situado entre R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>.

La presente invención en otro aspecto se refiere a una composición que comprende

a) una amina de fórmula general (IIa)



en la que

R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, alquino C2-C20 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalqueno C5-C20, cicloalquino C5-C20, arilo C5-C20, alquilarilo C6-C20, arilalquilo C6-C20, heteroalquilo C2-C20, heteroalquilo cíclico C3-C20, heteroarilo C4-C20, alquilheteroarilo C5-C20 y heteroarilalquilo C5-C20, en el que, en el caso de más de un sistema de anillo (hetero)alifático o (hetero)aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3; y

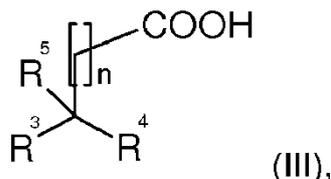
R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en un átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, arilo C5-C10, alquilarilo C6-C10 y arilalquilo C6-C10, en el que en el caso de más de un sistema de anillo aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>2</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>2a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3;

o

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> juntos forman un cicloalquilo C3-C10 o cicloalqueno C3-C10, en el que el cicloalquilo C3-C10 o el cicloalqueno C3-C10 tienen cada uno al menos un sustituyente R<sup>x</sup> seleccionado del grupo que consiste en un átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5, heteroalquilo C1-C4 y alquilo C1-C5-R<sup>y</sup>, en el que R<sup>y</sup> es hidroxilo o tiol;

y

b) al menos un ácido carboxílico de fórmula general (III)



en la que

n es cero o 1;

los residuos R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son ambos fenilo o juntos forman un anillo de fenilo, en el que cada anillo de fenilo tiene al menos un sustituyente adicional seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, preferiblemente cloro y grupo nitro; y el residuo R<sup>5</sup> es átomo de hidrógeno o metilo o está ausente si R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> juntos forman un anillo de fenilo, en el que al menos un ácido carboxílico está presente en su forma protonada o como carboxilato con un contraión adecuado.

De acuerdo con una realización preferida de la composición,

R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, alquino C2-C20 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalqueno C5-C20, cicloalquino C5-C20, arilo C5-C20, alquilarilo C6-C20, arilalquilo C6-C20, heteroalquilo C2-C20, heteroalquilo cíclico C3-C20, heteroarilo C4-C20, alquilheteroarilo C5-C20 y heteroarilalquilo C5-C20, en el que en el caso de más de un sistema de anillo (hetero)alifático o (hetero)aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3; y

R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, arilo C5-C10, alquilarilo C6-C10 y arilalquilo C6-C10, en el que en el caso de más de un sistema de anillo aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>2</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>2a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3.

Más preferiblemente, el al menos un ácido carboxílico de acuerdo con (b) es un ácido carboxílico seleccionado del grupo que consiste en ácido difenilacético (DPAA), ácido 2,2-difenilpropiónico (2DPPA), ácido 3,3-difenilpropiónico (3DPPA), ácido 3,4-dicloro-benzoico (34CA), ácido 3,4-dinitro-benzoico (34NA) y ácido 4-cloro-3-nitro-benzoico (43CNA), más preferiblemente forman el grupo que consiste en ácido difenilacético (DPAA), ácido 2,2-

difenilpropiónico (2DPPA) y ácido 3,3-difenilpropiónico (3DPPA), más preferiblemente ácido 2,2-difenilpropiónico (2DPPA) o ácido 3,3-difenilpropiónico (3DPPA), más preferiblemente al menos 3DPPA.

- De acuerdo con otra realización preferida de la composición, el residuo R<sup>1</sup> de la amina de acuerdo con (a) se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, alquino C2-C20 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalqueno C5-C20, cicloalquino C5-C20, arilo C5-C20, alquilarilo C6-C20, arilalquilo C6-C20, heteroalquilo C2-C20, heteroalquilo cíclico C3-C20, heteroarilo C4-C20, alquilheteroarilo C5-C20 y heteroarilalquilo C5-C20, en el que el heteroátomo o heteroátomos en heteroarilo C4-C20, alquilheteroarilo C5-C20 y heteroarilalquilo C5-C20 es/son oxígeno o azufre y el heteroátomo o heteroátomos en heteroalquilo C2-C20 y heteroalquilo cíclico C3-C20, se seleccionan entre oxígeno, azufre y nitrógeno, en el que, en el caso de más de un sistema de anillo (hetero)alifático o (hetero)aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3. Preferiblemente, el residuo R<sup>1</sup> de la amina de acuerdo con (a) se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, alquino C2-C20 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalqueno C5-C20, cicloalquino C5-C20, arilo C5-C20, alquilarilo C6-C20, arilalquilo C6-C20, heteroalquilo C2-C20, heteroalquilo cíclico C3-C20, en el que en el caso de más de un sistema de anillo alifático o aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3. Más preferiblemente, el residuo R<sup>1</sup> de la amina de acuerdo con (a) se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, alquino C2-C20 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalqueno C5-C20 y cicloalquino C5-C20, arilo C5-C20, en el que, en el caso de más de un sistema de anillo alifático o aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3. Más preferiblemente, el residuo R<sup>1</sup> de la amina de acuerdo con (a) se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C5-C10 y arilo C5-C20, en el que en el caso de más de un sistema de anillo alifático o aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3; R<sup>1</sup> se selecciona preferiblemente del grupo que consiste en metilo, isopropilo, ciclohexilo y fenilo, en el que fenilo tiene al menos un sustituyente seleccionado del grupo que consiste en un átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, preferiblemente flúor o cloro, y metoxi, preferiblemente meta- o para-metoxi.
- Para que R<sup>1</sup> sea alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado o alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, una realización preferida se refiere a que R<sup>1</sup> sea alquilo C4-C20 ramificado o no ramificado o alqueno C4-C20 ramificado o no ramificado.

De acuerdo con otra realización preferida de la composición, el residuo R<sup>2</sup> de la amina de acuerdo con (a) se selecciona del grupo que consiste en un átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, en el que cada residuo R<sup>2</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>2a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3. Preferiblemente, el residuo R<sup>2</sup> de la amina de acuerdo con (a) se selecciona del grupo que consiste en alquilo C1-C3 ramificado o no ramificado, siendo R<sup>2</sup> preferiblemente metilo.

En una realización preferida de la composición, se excluye la combinación de R<sup>1</sup>, siendo R<sup>1a</sup> un alquilo perfluorado. Lo mismo se aplica a R<sup>2</sup> y R<sup>2a</sup>, es decir, también se excluye la combinación de R<sup>2</sup> y R<sup>2a</sup> que es un alquilo perfluorado. En otras palabras, ni la combinación de R<sup>1</sup> y R<sup>1a</sup> ni la combinación de R<sup>2</sup> y R<sup>2a</sup> es un alquilo perfluorado.

Con respecto a la realización de la composición, en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> forman juntos un cicloalquilo C3-C10 o un cicloalqueno C3-C10, el número de átomos de C indicado incluye el átomo de carbonilo C situado entre R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup>.

De acuerdo con una realización preferida de la composición, la composición comprende la amina de acuerdo con (a) en una cantidad en el intervalo de 90 a 99,9 % en peso, preferiblemente en una cantidad en el intervalo de 95 a 99,9 % en peso, más preferiblemente en una cantidad en el intervalo de 98 a 99,9 % en peso. De acuerdo con otra realización preferida de la composición, la composición comprende el al menos un ácido carboxílico de acuerdo con (b) (forma protonada o carboxilato con un contraión adecuado) en una cantidad de al menos 0,003 % en peso, preferiblemente en una cantidad en el intervalo de 0,003 a 5 % en peso, más preferiblemente en una cantidad en el intervalo de 0,003 a 3 % en peso.

A continuación, se describen con más detalle las investigaciones llevadas a cabo por los inventores:

Como se describió anteriormente, los ácidos carboxílicos alifáticos, aromáticos y heteroaromáticos (R-COOH) comercialmente disponibles se seleccionaron y cribaron como sus respectivas sales de carboxilato hacia aminas comunes de una reacción catalizada por transaminasas. La 1-feniletilamina y los derivados sustituidos 2a-f de esta sirvieron como amina producida modelo y se compararon con aminas donantes típicas tales como isopropilamina 3,

2-butilamina racémica, DL-alanina y L-alanina. El enfoque de cribado sencillo resultó especialmente en la identificación de dos ácidos a base de bencilbenceno y tres derivados del ácido benzoico que cumplían los criterios requeridos: DPAA, 3DPPA, 34CA, 34NA y 43CNA. Además, se identificó 2DPPA como ácido carboxílico adecuado.

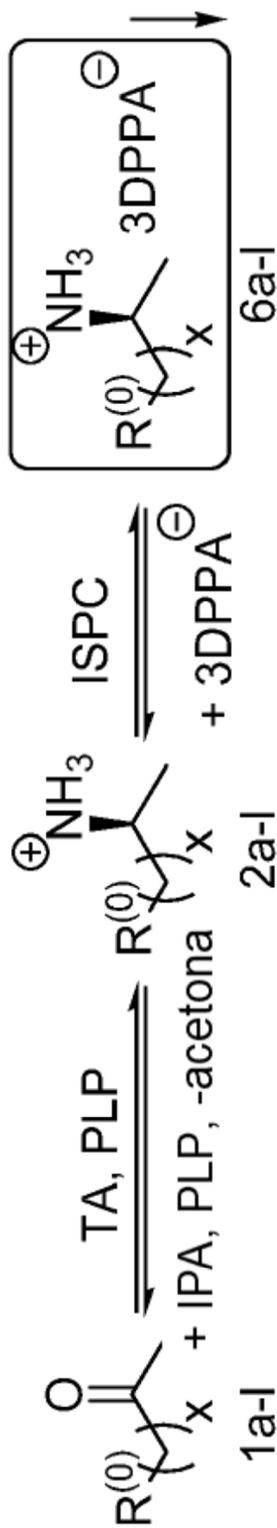
5 Por ejemplo, la sal de isopropilamina del ácido 4-cloro-3-nitrobenzoico (43CNA) 5 muestra una solubilidad muy alta de  $993 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ , mientras que la sal de 1-feniletilamina de 43CNA 6a es considerablemente menos soluble con  $22 \text{ mmol}\cdot\text{l}^{-1}$ . Como establece el principio de Le Chatelier, la solubilidad de sales de amina se puede reducir aún más si se agrega una cantidad sobreestequiométrica de carboxilato a la solución madre, lo que empuja el equilibrio de las formas disociadas (presentes en solución) hacia su forma de sal sólida no disociada.

10 Aparte de la diferencia de solubilidad general, la aplicabilidad de estos 3 ácidos, 43CNA, DPAA y 3DPPA, se probó con 7 amina transaminasas ejemplares de *Aspergillus fumigates* (AfATA), *Gibberella zeae* (GzATA), *Neosartorya fischeri* (NfATA), *Aspergillus oryzae* (AoATA), *Aspergillus terreus* (AtATA), *Mycobacterium vanbaalenii* (MvATA) y *Silicibacter pomeroyi* (SpATA) (Figura 1). Los resultados muestran que casi todas las aminas transaminasas investigadas ya están fuertemente inhibidas por 50 mM de los ácidos más solubles 43CNA y DPAA. En la presente memoria, MvATA y SpATA se identificaron como las enzimas más estables. Una excepción notable de estos  
15 resultados es el ácido 3DPPA, que solo es escasamente soluble en soluciones tamponadas. Esto limita de manera efectiva la concentración de carboxilato en solución acuosa a un máximo de  $\leq 25 \text{ mM}$ , dependiendo de la temperatura y el pH, mientras que el exceso de 3DPPA sólido permanece en la mezcla de reacción. Esta baja concentración de 3DPPA tampoco inhibe significativamente los ATA investigados. Afortunadamente, las sales de 3DPPA investigadas exhiben la solubilidad más baja de la sal de amina producida **6**, que encaja perfectamente en los requisitos de ISPC mencionados anteriormente (ver la sección de Ejemplos, Tablas 4 y 5). En consecuencia, el  
20 3DPPA se identificó como el ácido más valioso para la aplicación en una eliminación de producto *in situ* a base de cristalización (ISPR) de amina **2** de una reacción catalizada por amina transaminasa.

25 El uso de 3DPPA en combinación con una conversión catalizada por SpATA ejemplar de acetofenona 100 mM **1a** en (S)-1-feniletilamina muestra claramente la ventaja sintética de un ISPC a base de ácido (Figura 2). El enfoque de reacción clásico con una concentración baja de amina donante de sólo isopropilamina 250 mM produce una conversión no suficiente del 19 %. Una simple adición de 1,25 eq. 3DPPA sólido mejoró la conversión general directamente a ca. 75 %, independientemente del uso como biocatalizador de célula completa o extracto celular parcialmente purificado. La mayor parte del producto **2** está luego presente como sal **6** sólida, que puede recuperarse casi cuantitativamente por filtración después de enfriar la mezcla de reacción a  $0^\circ \text{C}$ . En consecuencia, este concepto de ISPC con 3DPPA se traduce en una síntesis más eficiente en cuanto a átomos, ya que se requiere menos amina donante y se facilita un enfoque simplificado de procesamiento corriente abajo (ver más abajo). Cabe destacar que la baja solubilidad de 3DPPA no limita la cristalización de la sal de amina producida, ya que la eliminación constante de 3DPPA de la solución acuosa se compensa continuamente de nuevo a su límite de solubilidad original mediante una disolución simultánea de 3DPPA (del exceso de 3DPPA sólido).

35 El concepto de ISPC mostrado con 3DPPA ácido también se utilizó con éxito para la conversión catalizada por SpATA de derivados **1b-g** seleccionados de acetofenona y otros sustratos **1h-k** no aromáticos (Tabla 2).

Tabla 2: Síntesis de aminas quirales catalizada por SpATA apoyada por ISPC



Sustrato	R <sup>(0)</sup>	x	Referencia de conversión/%	ISPC de conversión/%	e.e./% <sup>[a]</sup>
1a	Ph	0	19	75	>99,5
1b	m-F-Ph	0	21	69	>99,5
1c	p-F-Ph	0	11	61	>99,5
1d	m-Cl-Ph	0	8	46	>99,5
1e	p-Cl-Ph	0	8	65	>99,5
1f	m-MeO-Ph	0	10	37	>99,5
1g	p-MeO-Ph	0	4	8	>99,5
1h	Cy	0	0	8	n.d.
1i	Me	3	37	72	>99,5
1j	Me	4	20	78	98,7
1k	iPr	1	36	96	n.d.

[a] Se dan valores para la reacción apoyada por ISPC; Condiciones: tampón de fosfato 200 mM pH 7,5, sustrato 100 mM, isopropilamina 250 mM, células enteras liofilizadas a 15 mg·mL<sup>-1</sup>, 30 ° C; 3DPPA 125 mM para ISPC.

5 Como era de esperar, para todos los sustratos se obtuvieron bajas conversiones sin ISPC debido al uso bajo, pero todavía sobreestoiométrico, de isopropilamina 250 mM. Una simple adición de 3DPPA aumenta significativamente la formación de producto para casi todos los sustratos investigados. Las mejoras oscilan entre 2 y 8,1 veces con rendimientos de hasta 96 % para **1k**, mientras que los productos se cristalizan selectivamente como sus sales 3DPPA. La solución madre restante, incluido el exceso de isopropilamina, se puede reutilizar directamente para un aumento adicional de la eficiencia del átomo de la reacción catalizada por transaminasas. Incluso concentraciones de amina donante más altas producirán un aumento adicional en conversión, pero incluyen el riesgo de una  
10 cristalización no deseada de la sal de amina donante, que luego eventualmente produce una disminución en formación del producto.

15 El aislamiento de la amina **2** producida se realiza fácilmente disolviendo el producto sal **6** en una solución acuosa a pH alto, seguido de una extracción y evaporación del disolvente, por ejemplo MTBE. Alternativamente, la sal de hidrocloreto respectiva se puede cristalizar directamente de la fase de éter mediante una adición cuidadosa de HCl concentrado. Además, el ácido consumido 3DPPA también se puede precipitar de la fase acuosa restante mediante acidificación con HCl concentrado, debido a su baja solubilidad a pH bajo.

20 Resumiendo, la cristalización del producto *in situ* presentado de una amina de una reacción catalizada por transaminasas mediante la adición de un ácido/carboxilato seleccionado presenta una poderosa alternativa sintética al uso de aminas donantes hechas a medida y sistemas complejos de reacción en cascada. Las principales ventajas de este ISPC son un uso más eficiente de los átomos de aminas donantes clásicas y de bajo coste y un enfoque de procesamiento corriente abajo simplificado mediante filtración simple. La amina producida diana se puede extraer posteriormente de su sal y el ácido 3DPPA aplicado se puede reciclar fácilmente.

### Descripción de Figuras

25 Figura 1 Efectos de 43CNA, DPAA y 3DPPA sobre aminas transaminasas seleccionadas; Condiciones: tampón de fosfato 200 mM pH 7,5, acetofenona 10 mM **1**, isopropilamina 500 mM (43CNA y DPAA) o 250 mM (3DDPA), de extracto celular liofilizado a 5 mg·mL<sup>-1</sup>, 30 ° C, 22 horas; las concentraciones obtenidas de **2** se mantuvieron intencionalmente por debajo del límite de solubilidad de la sal producto **6** para evitar una cristalización del producto *in situ* no deseada; se eligió 43CNA como un representante de los derivados del ácido benzoico identificados;

30 Figura 2 Curvas de progresión en el tiempo para la formación catalizada por SpTA de (S)-1-feniletíl-amina con y sin cristalización del producto *in situ* (ISPC); □ -células enteras o ■ -extracto de células con 3DPPA 125 mM, O-células completas o ●-extracto de células sin 3DPPA; Condiciones: tampón de fosfato 200 mM pH 7,5, acetofenona 100 mM, isopropilamina 250 mM, de extracto celular liofilizado o células completas a 15 mg·mL<sup>-1</sup>, 30 ° C;

35 Figura 3 Resultado ejemplar para la precipitación de sales de (S)-4-cloro-1-feniletíl-amina.

### Sección experimental

#### 1. Información General

40 Materiales: Todos los productos químicos se obtuvieron de proveedores comerciales y se utilizaron tal como se recibieron. Se utilizó agua desionizada a lo largo de este estudio. Las enzimas investigadas (extracto crudo y células completas) se recibieron de Enzymicals AG (Greifswald, Alemania) como liofilizados; ECS-ATA01 (TA de *Aspergillus fumigates*, SEQ ID NO. 1), ECS-ATA02 (TA de *Gibberella zeae*, SEQ ID NO 2), ECS-ATA03 (TA de *Neosartorya fischeri*, SEQ ID NO. 3), ECS-ATA04 (TA de *Aspergillus oryzae*, SEQ ID NO. 4), ECS-ATA05 (TA de *Aspergillus terreus*, SEQ ID NO. 5), ECS-ATA07 (TA de *Mycobacterium vanbaalenii*, SEQ ID NO. 6) y ECS-ATA08 (TA de *Silicibacter pomeroyi*, SEQ ID NO. 7).

45 Cromatografía de gases: la conversión se midió con un cromatógrafo de gases Trace 1310 de Thermo Scientific (Dreieich, Alemania), equipado con un detector de ionización de llama 1300 y una columna Chirasil-Dex-CB (25 m x 0,25 mm x 0,25 µm). Se utilizó n-Decano como estándar interno en todas las mediciones. Las temperaturas del inyector y detector se fijaron en 250 ° C.

#### Programas de temperatura:

50 Compuestos 1a/2a, 1b/2b y 1c/2c: inicio a 90 ° C, seguido de una tasa de calentamiento de 2 K/minuto a 114 ° C y de 20 K/minuto a 150 ° C

Compuestos 1d/2d, 1e/2e, 1f/2f y 1g/2g: inicio a 90 ° C, seguido de una tasa de calentamiento de 2 K/minuto a 100 ° C, 20 K/minuto a 130 ° C, 2 K/minuto a 150 ° C y 20 K/minuto a 160 ° C

Compuestos 1i/2i, 1j/2j, 1k/2k: inicio a 90 ° C, seguido de una tasa de calentamiento de 2 K/minuto a 96 ° C y 20 K/minuto a 110 ° C.

5 HPLC: El exceso enantiomérico se midió con una HPLC Serie 1100 de Agilent (Santa Clara, California, Estados Unidos), equipada con un detector de matriz de diodos, con un Chiralcel OD-H (250 mm de longitud, 4,6 mm de diámetro interno, tamaño de partícula: 5 µm) y un flujo de 1 ml/minuto a 25 ° C. Composición eluyente para la amina respectiva: n-heptano al 99 %/etanol al 1 % para 2f; n-heptano al 98 %/etanol al 2 % para 2b, 2c y 2g; n-heptano al 95 %/etanol al 5 % para 2a, 2d y 2e.

10 Ensayo de actividad enzimática: se midió la actividad enzimática a una longitud de onda de 245 nM con el espectrofotómetro Specord 200 de Analytik Jena (Jena, Alemania). Coeficiente de extinción de acetofenona: 11,852 (mM•cm)<sup>-1</sup>.

15 Composición del ensayo: 250 µl de solución tampón, 250 µl de (S)-1-feniletilamina 10 mM en solución tampón, 250 µl de piruvato de sodio 10 mM en solución tampón y 250 µl de muestra de enzima en solución tampón con fosfato de piridoxal 0,1 mM. Todas las mediciones se midieron frente a una solución de referencia, mientras que la solución de enzima se reemplazó con 200 µl de solución tampón y 50 µl de piridoxal fosfato 10 mM en solución tampón. Solución tampón: tampón de fosfato 50 mM pH 8 con DMSO al 0,25 %.

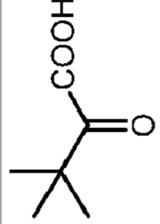
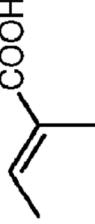
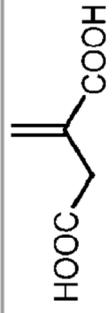
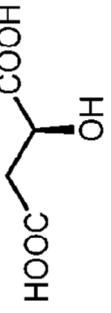
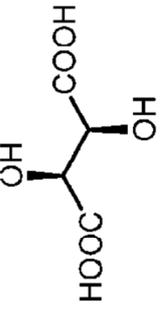
## 2. Ácidos investigados para la cristalización del producto *in situ* de aminas

Se eligieron un total de 79 ácidos para el procedimiento de cribado de aminas relevantes (tabla 3). La selección se basa principalmente en la disponibilidad comercial y estabilidad en solución acuosa.

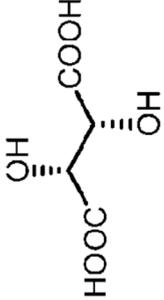
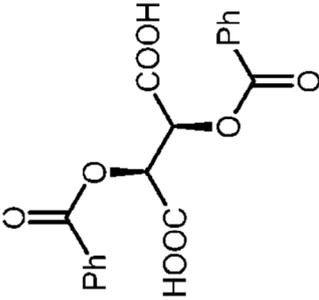
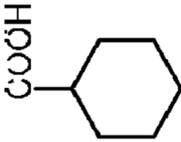
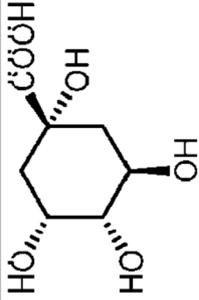
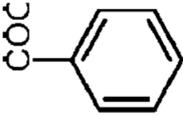
Tabla 3: Lista de ácidos investigados para el concepto ISPC

Entrada	Abreviatura	Nombre completo	Estructura química	Masa molar [g/mol]
1	FCC	Ácido fórmico	HCOOH	46,03
2	ACC	Ácido acético		60,05
3	PPA	Ácido propiónico		74,08
4	BCA	Ácido butírico		88,11
5	VCA	Ácido valérico		102,13
6	HXCA	Ácido hexanoico		116,16
7	HA	Ácido heptanoico		130,19
8	CCA	Ácido caprílico		144,21
9	nNA	Ácido nonanoico		158,23
10	DCC	Ácido decanoico		172,27
11	OA	Ácido oxálico	HOOC-COOH	90,03
12	MA	Ácido malónico	HOOC-CH <sub>2</sub> -COOH	104,06
13	SCCA	Ácido succínico	HOOC-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -COOH	118,09
14	GA	Ácido glutárico	HOOC-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -COOH	132,12
15	APS	Acido adipico	HOOC-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -COOH	146,14
16	PIA	Ácido pimélico	HOOC-CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -CH <sub>2</sub> -COOH	160,17

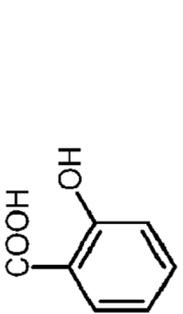
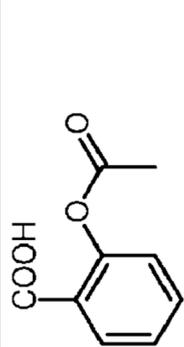
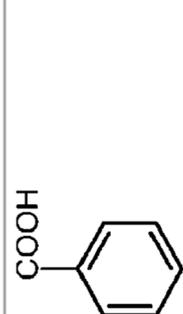
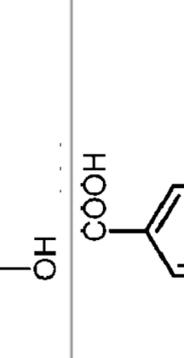
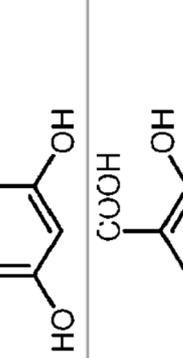
(continuación)

Entrada	Abreviatura	Nombre completo	Estructura química	Masa molar [g/mol]
17	SBCA	Ácido subérico		174,20
18	AA	Ácido azelaico		188,22
19	SCA	Ácido sebáico		202,25
20	TMPA	Ácido trimetilpirúvico		130,14
21	GCA	Ácido glicólico		76,05
22	TG	Acido tiglico		100,116
23	IS	Ácido itacónico		130,10
24	FA	Ácido fumárico		116,07
25	LMA	Ácido L-málico		134,09
26	DTA	Ácido D-(-)-tartárico		150,09

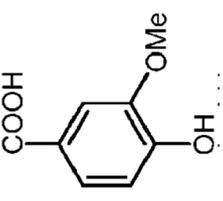
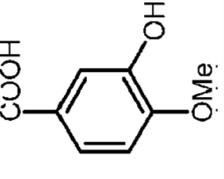
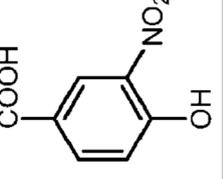
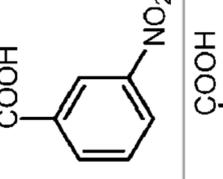
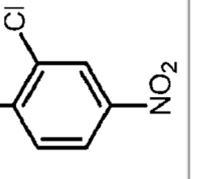
(continuación)

Entrada	Abreviatura	Nombre completo	Estructura química	Masa molar [g/mol]
27	LTA	Ácido L-(-)-tartárico		150,09
28	DBDT	Ácido dibenzoil-D-tartárico		358,30
29	CHCA	Ácido ciclohexano carboxílico		128,17
30	DQA	Ácido D-(-)-quinínico		192,17
31	BZA	Ácido benzoico		122,12

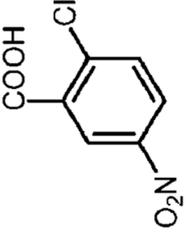
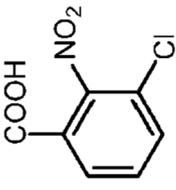
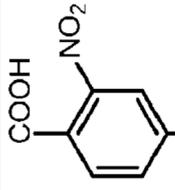
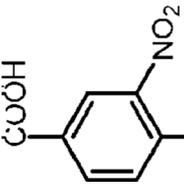
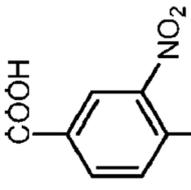
(continuación)

Entrada	Abreviatura	Nombre completo	Estructura química	Masa molar [g/mol]
32	SA	Ácido salicílico		138,12
33	ASA	Ácido acetilsalicílico		180,16
34	4HBA	Ácido 4-hidroxibenzoico		138,12
35	35HBA	Ácido 3,5-dihidroxibenzoico		154,12
36	25DHBA	Ácido 2,5-dihidroxibenzoico		154,12

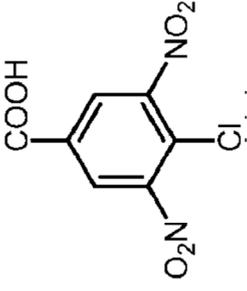
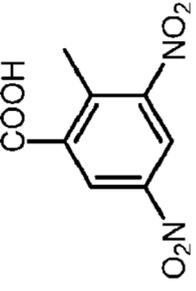
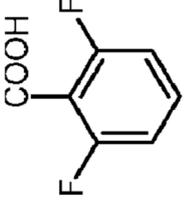
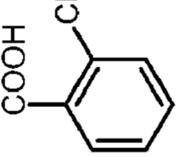
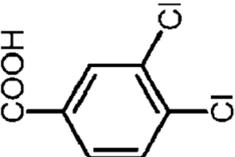
(continuación)

Entrada	Abreviatura	Nombre completo	Estructura química	Masa molar [g/mol]
37	VA	Ácido vanílico		168,15
38	IVA	Ácido isovanílico		168,15
39	43HNBA	Ácido 4-hidroxi-3-nitrobenzoico		183,12
40	3NA	Ácido 3-nitrobenzoico		167,12
41	24CNA	Ácido 2-cloro-4-nitrobenzoico		201,56

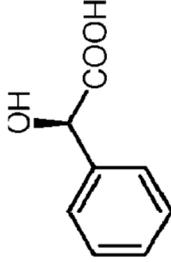
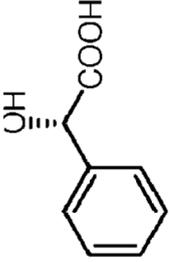
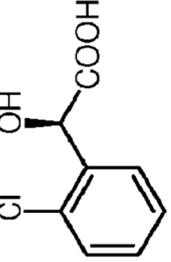
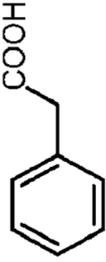
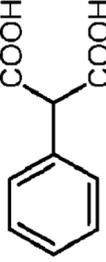
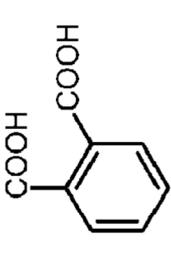
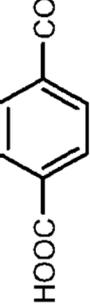
(continuación)

Entrada	Abreviatura	Nombre completo	Estructura química	Masa molar [g/mol]
42	25CNA	Ácido 2-cloro-5-nitrobenzoico		201,56
43	32CNA	Ácido 3-cloro-2-nitrobenzoico		201,56
44	42CNA	Ácido 4-cloro-2-nitrobenzoico		201,56
45	43CNA	Ácido 4-cloro-3-nitrobenzoico		201,56
46	34NA	Ácido 3,4-dinitro-benzoico		212,12

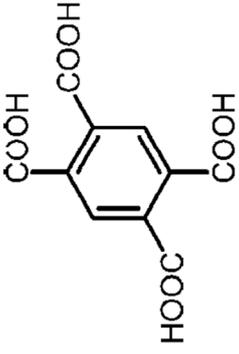
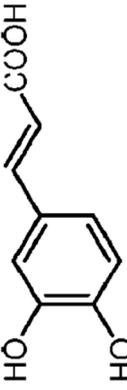
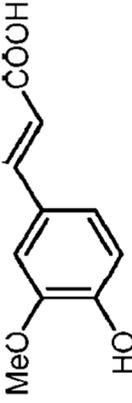
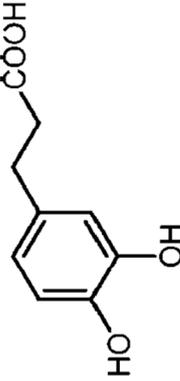
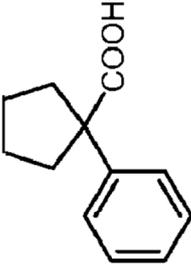
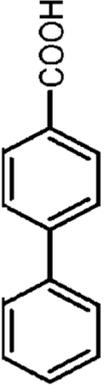
(continuación)

Entrada	Abreviatura	Nombre completo	Estructura química	Masa molar [g/mol]
47	435CNBA	Ácido 4-cloro-3,5-dinitrobenzoico		246,56
48	35DNOT	Ácido 3,5-dinitro-o-tolúico		226,14
49	26FBA	Ácido 2,6-difluorobenzoico		158,10
50	2CA	Ácido 2-clorobenzoico		156,57
51	34 CA	Ácido 3,4-dicloro-benzoico		191,01

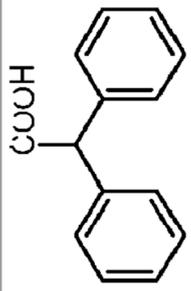
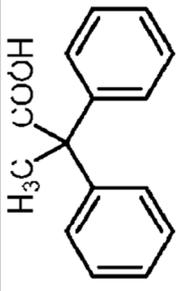
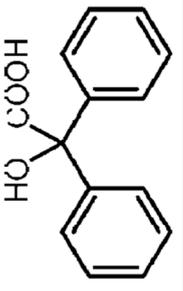
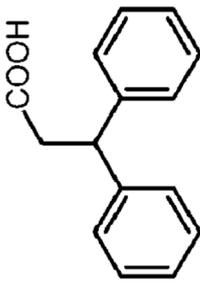
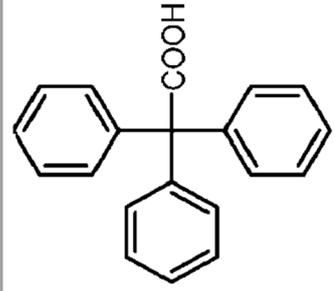
(continuación)

Entrada	Abreviatura	Nombre completo	Estructura química	Masa molar [g/mol]
52	RMA	ácido (R)-mandélico		152,15
53	SMA	ácido (S)-mandélico		152,15
54	CMA	Ácido R-(-)-2-cloromandélico		186,59
55	PAA	Ácido fenilacético		136,15
56	PMA	Ácido fenil-malónico		180,16
57	PA	Ácido ftálico		166,13
58	TPA	Ácido tereftálico		166,13

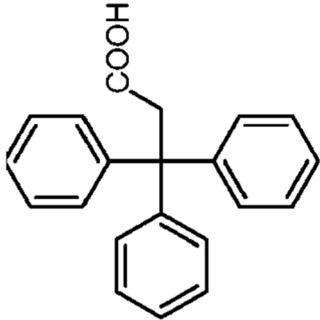
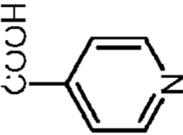
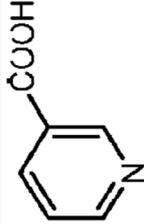
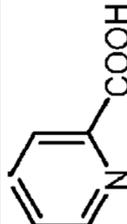
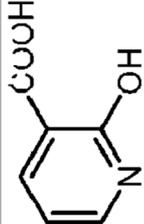
(continuación)

Entrada	Abreviatura	Nombre completo	Estructura química	Masa molar [g/mol]
59	BTA	Ácido 1,2,4,5-benceno-tetracarboxílico		254,15
60	CA	Ácido cafeico		180,16
61	FCA	Ácido ferúlico		194,18
62	34HHCAA	Ácido 3,4-dihidroxihidrocinnámico		182,17
63	PCPA	Ácido 1-fenilciclopentanocarboxílico		190,24
64	BPA	Ácido 4-bifenilcarboxílico		198,22

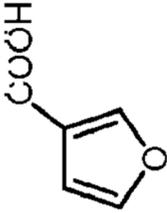
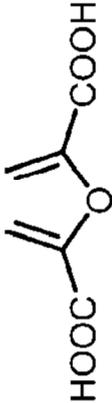
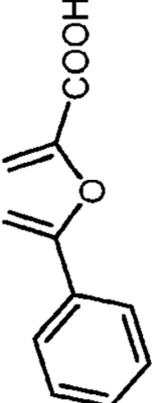
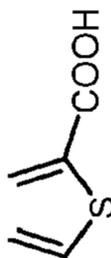
(continuación)

Entrada	Abreviatura	Nombre completo	Estructura química	Masa molar [g/mol]
65	DPAA	Ácido difenilacético		212,24
66	2DPPA	Ácido 2,2-difenilpropiónico		226,27
67	BA	Ácido bencílico		228,25
68	3DPPA	Ácido 3,3-difenilpropiónico		226,27
69	TPAA	Ácido trifenil-acético		288,34

(continuación)

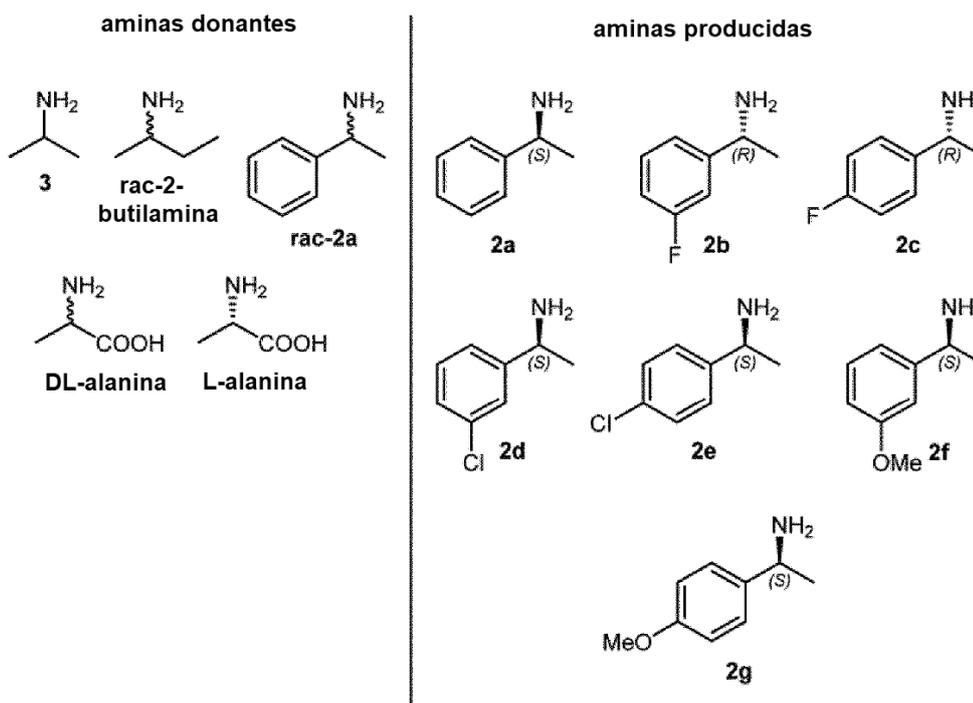
Entrada	Abreviatura	Nombre completo	Estructura química	Masa molar [g/mol]
70	TPPA	Ácido 3,3,3-trifenil-propiónico		302,37
71	INA	Ácido isonicotínico		123,11
72	NCC	Ácido nicotínico		123,11
73	PCC	Ácido picolínico		123,11
74	2HNA	Ácido 2-hidroxi-nicotínico		139,11
75	2FCA	Ácido 2-furoico		112,08

(continuación)

Entrada	Abreviatura	Nombre completo	Estructura química	Masa molar [g/mol]
76	3FCA	Ácido 3-furoico		112,08
77	25FDCA	Ácido 2,5-furandicarboxílico		156,09
78	PFA	Ácido 5-fenil-2-furoico		188,18
79	2TPCA	Ácido 2-tiofenocarboxílico		128,15

### 3. Cribado por precipitación para ácidos adecuados

5 El cribado de ácidos adecuado se llevó a cabo con 1-feniletilamina **2a** enantioméricamente pura y 6 derivados de esta como aminas producidas modelo a 50 mM. Como aminas donantes típicas se eligieron 2-butilamina racémica, alanina racémica y L-alanina (a 100 mM) e isopropilamina **3** y 1-feniletilamina racémica **rac-2a** (a 250 mM y 1000 mM) (esquema 3). La elección del enantiómero de amina del producto respectivo no es relevante para el cribado de solubilidad, ya que los enantiómeros tienen propiedades fisicoquímicas idénticas (incluida solubilidad), excepto su rotación de luz polarizada en el plano en direcciones opuestas. Los resultados con aminas racémicas pueden diferir significativamente.



**Esquema 3:** Aminas producidas y donantes ejemplares para cribado de ácido

#### 10 Soluciones ácidas neutralizadas:

Las 79 soluciones de ácido 400 mM separadas (típicamente 20 ml) se prepararon disolviendo el ácido respectivo en tampón de fosfato 50 mM pH 7,5. Posteriormente, dentro de todas las soluciones resultantes, el pH se volvió a ajustar cuidadosamente a 7,5. Tener en cuenta que ácidos con baja solubilidad acuosa pueden requerir múltiples ajustes de pH debido a un proceso de disolución adicional después de su ajuste de pH anterior. La solución ácida con una fracción sólida restante se filtró y se usó en su concentración resultante (desconocida).

#### 15 Soluciones de amina neutralizada:

Las aminas producidas ejemplares seleccionadas se disolvieron en tampón de fosfato 50 mM pH 7,5 con una concentración de 100 mM cada una y el pH se ajustó cuidadosamente de nuevo a 7,5. De manera similar, se prepararon soluciones de las aminas donantes (200 mM para 2 butilamina racémica, alanina racémica y L-alanina y 500 mM y 2000 mM para isopropilamina y 1-feniletilamina racémica).

#### 20 Procedimiento de cribado de precipitaciones

Se administraron fracciones cada una de 200  $\mu$ l de las soluciones ácidas neutralizadas (79 en total) en una placa de 96 pocillos y se documentó su posición. Posteriormente se añadieron 200  $\mu$ l de una solución de amina neutralizada en cada pocillo lleno, lo que condujo a una solución transparente o una precipitación casi instantánea. El resultado se documentó mediante observación visual y fotografía contra un fondo negro después de 1 y 24 horas. La Figura 3 muestra un resultado ejemplar para las sales de (S)-4-cloro-1-feniletilamina después de 1 hora. El procedimiento se repitió para todas las soluciones de amina y los resultados se compararon entre sí (tabla 4). La intensidad de precipitación, como lo muestra el código de sombra, sirve como una aproximación cualitativa de las solubilidades de sal y sus diferencias.

Tabla 4: Presentación gráfica de los resultados del cribado

	aminas donantes ejemplares				aminas producidas ejemplares							
	isopropil-amina	rac-1- feniletilamina	2- butilamina	LD- alanina	L- alanina	(S)-1-PEA 2a	(S)-3Cl-1- PEA 2b	(S)-4Cl-1- PEA 2c	(R)-3F-1- PEA 2d	(R)-4F-1- PEA 2e	(S)-3MeO-1- PEA 2f	(R)-4MeO-1- PEA 2g
conc.	1000 mM	1000 mM	250 mM	250 mM	1000 mM	250 mM	1000 mM	250 mM	1000 mM	250 mM	1000 mM	250 mM
3	1000 mM	1000 mM	250 mM	250 mM	1000 mM	250 mM	1000 mM	250 mM	1000 mM	250 mM	1000 mM	250 mM
24CNA												
25CNA												
25DHBA												
25FDCA												
26FBA												
2CA												
2DPPA												
2FCA												
2HNA												
2TPCA												
32CNA												
34CA												
34HHCAA												
34NA												
35DNOT												
35HBA												
3DPPA												
3FCA												
3NA												
42CNA												
435CNBA												
43CNA												

(continuación)

	aminas donantes ejemplares				aminas producidas ejemplares						
	isopropil-amina	rac-1-feniletilamina	2-butilamina	L-alanina	(S)-1-PEA	(S)-3Cl-1-PEA	(S)-4Cl-1-PEA	(R)-3F-1-PEA	(R)-4F-1-PEA	(S)-3MeO-1-PEA	(R)-4MeO-1-PEA
	3	rac-2a			2a	2b	2c	2d	2e	2f	2g
conc.	1000 mM	250 mM	1000 mM	250 mM	cada 100 mM	cada 100 mM					
43HNBA											
4HBA											
AA											
ACC											
APS											
ASA											
BA											
BCA											
BPA											
BTA											
BZA											
CA											
CCA											
CHCA											
CMA											
DBDT											
DCC											
DPAA											
DQA											
DTA											
FA											

(continuación)

	aminas donantes ejemplares			aminas producidas ejemplares								
	isopropil-amina	rac-1-feniletilamina	2-butilamina	LD-alanina	L-alanina	(S)-1-PEA 2a	(S)-3Cl-1-PEA 2b	(S)-4Cl-1-PEA 2c	(R)-3F-1-PEA 2d	(R)-4F-1-PEA 2e	(S)-3MeO-1-PEA 2f	(R)-4MeO-1-PEA 2g
concentración	1000 mM	1000 mM	250 mM	250 mM	1000 mM	250 mM	1000 mM	250 mM	1000 mM	250 mM	1000 mM	250 mM
FCA												
FCC												
GA												
GCA												
HA												
HXCA												
INA												
IS												
IVA												
LMA												
LTA												
MA												
NCC												
nNA												
OA												
PA												
PAA												
PCC												
PCPA												
PFA												
PIA												
PMA												

(continuación)

	aminas donantes ejemplares				aminas producidas ejemplares							
	isopropil-amina 3	rac-1- feniletilamina rac-2a	2- butilamina	LD- alanina	L- alanina	(S)-1-PEA 2a	(S)-3Cl-1- PEA 2b	(S)-4Cl-1- PEA 2c	(R)-3F-1- PEA 2d	(R)-4F-1- PEA 2e	(S)-3MeO-1- PEA 2f	(R)-4MeO-1- PEA 2g
conc.	1000 mM	250 mM	250 mM	250 mM		cada 100 mM						
PPA												
RMA												
SA												
SBCA												
SCA												
SCCA												
SMA												
TG												
TMPA												
TPA												
TPAA												
TPPA												
VA												
VCA												
24CNA												

## descripción de símbolos y código de tono gris para la Tabla 3

	
5	
	
10	

sin precipitación

pocos cristales

precipitación media

precipitación significativa

Los resultados de la tabla 3 muestran claramente que ciertos ácidos permiten diferencias significativas en la solubilidad entre las sales investigadas. En este cribado se tuvo como objetivo especialmente a las diferencias entre las aminas producidas y las aminas donantes de uso común isopropilamina/alanina. En base a esta consideración, los siguientes ácidos parecen los más aplicables: 34CA, 34NA, 43CNA y 3DPPA. Además, se identificó 2DPPA como ácido adecuado. Los ácidos con diferencias menos fuertes son PCPA, 24CNA, 25CNA, 35DNOT, 3NA y 435CNBA, que pueden ser útiles para otras aminas producidas. Posteriormente, el PCPA fue excluido de la lista de ácidos potenciales debido a una reacción de descomposición desconocida de ciertas soluciones salinas (fuerte decoloración).

#### 4. Síntesis de aminas producidas catalizadas por transaminasas en combinación con una cristalización del producto *in situ*.

Procedimiento general de semipreparación para la síntesis catalizada por amina transaminasa de **2a-k** en combinación con una cristalización del producto *in situ* de la amina producida **6a-k** *in situ* a través de 3DPPA: Se dio a **25** ml de tampón de fosfato 200 mM pH 7,5 532  $\mu$ l de isopropilamina ( $\pm$  250 mM) y 707 mg de 3DPPA ( $\pm$  125 mM) y la suspensión resultante se ajustó a pH 7,5 con solución acuosa de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>. Posteriormente se añadieron PLP, sustrato ( $\pm$  100 mM) y biocatalizador y la mezcla resultante se agitó a 200 rpm. Una vez completada la reacción, la mezcla resultante se filtró para obtener la sal de amina producida formada. (Este sólido contendrá el biocatalizador restante y el exceso de 3DPPA). Posteriormente, la fracción sólida se lavó con 10 ml de MTBE para eliminar el sustrato restante y partes del exceso de 3DPPA. A continuación, se dio el sólido en 5 ml de agua, se añadió 0,5 ml de NaOH concentrado para aumentar el pH y se extrajo el producto **2** formado con 5 ml de MTBE. Después de la separación de fases, se obtuvo el producto como su clorhidrato mediante la adición lenta de HCl concentrado a la fase de éter. El 3DPPA se puede precipitar de la solución acuosa restante agregando HCl concentrado, por ejemplo, para reciclaje (rendimiento aislado 71 %).

Procedimiento general de control de la reacción: Se tomaron periódicamente muestras (500  $\mu$ l) y se mezclaron cuidadosamente mediante un mezclador de vórtice con 50  $\mu$ l de NaOH concentrado para apagar la reacción y aumentar el pH. Posteriormente se agregaron 500  $\mu$ l de MTBE, se mezclaron nuevamente con un mezclador de vórtice y se centrifugaron (2 min, 3000 rpm) para mejorar la separación de fases. Se tomaron 200  $\mu$ l de la capa orgánica, se combinaron con 50  $\mu$ l de una solución de n-decano 25 mM en MTBE (estándar interno) y posteriormente se analizaron por cromatografía de gases (columna: CP-Chirasil-Dex CB; 25 m, 0,25 mm, 0,25  $\mu$ m de Agilent, Estados Unidos).

#### Listado de secuencias

&lt;110&gt; Enzymicals AG

Universität Rostock

&lt;120&gt; Procedimiento para preparar aminas a partir de compuestos carbonílicos mediante reacción de transaminasas bajo precipitación salina

&lt;130&gt; PVA1235EP

ES 2 816 102 T3

<160> 7

<170> Patenteln versión 3.3

<210> 1

<211> 323

5 <212> PRT

<213> *Aspergillus fumigates*

<400> 1

```

Met Ala Ser Met Asp Lys Val Phe Ser Gly Tyr Tyr Ala Arg Gln Lys
 1          5          10          15

Leu Leu Glu Arg Ser Asp Asn Pro Phe Ser Lys Gly Ile Ala Tyr Val
          20          25          30

Glu Gly Lys Leu Val Leu Pro Ser Asp Ala Arg Ile Pro Leu Leu Asp
          35          40          45

Glu Gly Phe Met His Ser Asp Leu Thr Tyr Asp Val Ile Ser Val Trp
 50          55          60

Asp Gly Arg Phe Phe Arg Leu Asp Asp His Leu Gln Arg Ile Leu Glu
65          70          75          80

Ser Cys Asp Lys Met Arg Leu Lys Phe Pro Leu Ala Leu Ser Ser Val
          85          90          95

Lys Asn Ile Leu Ala Glu Met Val Ala Lys Ser Gly Ile Arg Asp Ala
          100          105          110

Phe Val Glu Val Ile Val Thr Arg Gly Leu Thr Gly Val Arg Gly Ser
          115          120          125

Lys Pro Glu Asp Leu Tyr Asn Asn Asn Ile Tyr Leu Leu Val Leu Pro
          130          135          140

Tyr Ile Trp Val Met Ala Pro Glu Asn Gln Leu His Gly Gly Glu Ala
145          150          155          160

Ile Ile Thr Arg Thr Val Arg Arg Thr Pro Pro Gly Ala Phe Asp Pro

```

ES 2 816 102 T3

				165					170					175		
Thr	Ile	Lys	Asn	Leu	Gln	Trp	Gly	Asp	Leu	Thr	Lys	Gly	Leu	Phe	Glu	
			180					185					190			
Ala	Met	Asp	Arg	Gly	Ala	Thr	Tyr	Pro	Phe	Leu	Thr	Asp	Gly	Asp	Thr	
		195					200					205				
Asn	Leu	Thr	Glu	Gly	Ser	Gly	Phe	Asn	Ile	Val	Leu	Val	Lys	Asn	Gly	
	210					215					220					
Ile	Ile	Tyr	Thr	Pro	Asp	Arg	Gly	Val	Leu	Arg	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys	
225					230					235					240	
Ser	Val	Ile	Asp	Val	Ala	Arg	Ala	Asn	Ser	Ile	Asp	Ile	Arg	Leu	Glu	
				245					250					255		
Val	Val	Pro	Val	Glu	Gln	Ala	Tyr	His	Ser	Asp	Glu	Ile	Phe	Met	Cys	
			260					265					270			
Thr	Thr	Ala	Gly	Gly	Ile	Met	Pro	Ile	Thr	Leu	Leu	Asp	Gly	Gln	Pro	
		275					280					285				
Val	Asn	Asp	Gly	Gln	Val	Gly	Pro	Ile	Thr	Lys	Lys	Ile	Trp	Asp	Gly	
	290					295					300					
Tyr	Trp	Glu	Met	His	Tyr	Asn	Pro	Ala	Tyr	Ser	Phe	Pro	Val	Asp	Tyr	
305					310					315					320	

Gly Ser Gly

<210> 2

<211> 325

<212> PRT

5 <213> *Gibberella zeae*

<400> 2

ES 2 816 102 T3

Met Ser Thr Met Asp Lys Ile Phe Ala Gly His Ala Gln Arg Gln Ala  
1 5 10 15

Thr Leu Val Ala Ser Asp Asn Ile Phe Ala Asn Gly Ile Ala Trp Ile  
20 25 30

Gln Gly Glu Leu Val Pro Leu Asn Glu Ala Arg Ile Pro Leu Met Asp  
35 40 45

Gln Gly Phe Met His Gly Asp Leu Thr Tyr Asp Val Pro Ala Val Trp

ES 2 816 102 T3

50						55						60					
Asp	Gly	Arg	Phe	Phe	Arg	Leu	Asp	Asp	His	Leu	Asp	Arg	Leu	Glu	Ala		
65					70					75				80			
Ser	Val	Lys	Lys	Met	Arg	Met	Gln	Phe	Pro	Ile	Pro	Arg	Asp	Glu	Ile		
				85					90					95			
Arg	Met	Thr	Leu	Leu	Asp	Met	Leu	Ala	Lys	Ser	Gly	Ile	Lys	Asp	Ala		
			100					105					110				
Phe	Val	Glu	Leu	Ile	Val	Thr	Arg	Gly	Leu	Lys	Pro	Val	Arg	Glu	Ala		
		115					120					125					
Lys	Pro	Gly	Glu	Val	Leu	Asn	Asn	His	Leu	Tyr	Leu	Ile	Val	Gln	Pro		
	130					135					140						
Tyr	Val	Trp	Val	Met	Ser	Pro	Glu	Ala	Gln	Tyr	Val	Gly	Gly	Asn	Ala		
145					150					155					160		
Val	Ile	Ala	Arg	Thr	Val	Arg	Arg	Ile	Pro	Pro	Gly	Ser	Met	Asp	Pro		
				165					170					175			
Thr	Ile	Lys	Asn	Leu	Gln	Trp	Ser	Asp	Phe	Thr	Arg	Gly	Met	Phe	Glu		
			180					185					190				
Ala	Tyr	Asp	Arg	Gly	Ala	Gln	Tyr	Pro	Phe	Leu	Thr	Asp	Gly	Asp	Thr		
		195					200					205					
Asn	Ile	Thr	Glu	Gly	Ser	Gly	Phe	Asn	Val	Val	Phe	Val	Lys	Asn	Asn		
	210					215					220						
Val	Ile	Tyr	Thr	Pro	Asn	Arg	Gly	Val	Leu	Gln	Gly	Ile	Thr	Arg	Lys		
225					230					235					240		
Ser	Val	Ile	Asp	Ala	Ala	Lys	Trp	Cys	Gly	His	Glu	Val	Arg	Val	Glu		
				245					250					255			
Tyr	Val	Pro	Val	Glu	Met	Ala	Tyr	Glu	Ala	Asp	Glu	Ile	Phe	Met	Cys		
			260					265					270				
Thr	Thr	Ala	Gly	Gly	Ile	Met	Pro	Ile	Thr	Thr	Met	Asp	Gly	Lys	Pro		
		275					280					285					
Val	Lys	Asp	Gly	Lys	Val	Gly	Pro	Val	Thr	Lys	Ala	Ile	Trp	Asp	Arg		
	290					295					300						

ES 2 816 102 T3

Tyr Trp Ala Met His Trp Glu Asp Glu Phe Ser Phe Lys Ile Asp Tyr  
305 310 315 320

Gln Lys Leu Lys Leu  
325

<210> 3

<211> 323

<212> PRT

5 <213> *Neosartorya fischeri*

<400> 3

ES 2 816 102 T3

Met Ala Ser Met Asp Lys Val Phe Ser Gly Tyr His Ala Arg Gln Lys  
 1 5 10 15

Leu Leu Glu Arg Ser Asp Asn Pro Phe Ser Lys Gly Ile Ala Tyr Val  
 20 25 30

Glu Gly Lys Leu Val Leu Pro Ser Asp Ala Arg Ile Pro Leu Leu Asp  
 35 40 45

Glu Gly Phe Met His Gly Asp Leu Thr Tyr Asp Val Thr Thr Val Trp  
 50 55 60

Asp Gly Arg Phe Phe Arg Leu Asp Asp His Met Gln Arg Ile Leu Glu  
 65 70 75 80

Ser Cys Asp Lys Met Arg Leu Lys Phe Pro Leu Ala Pro Ser Thr Val  
 85 90 95

Lys Asn Ile Leu Ala Glu Met Val Ala Lys Ser Gly Ile Arg Asp Ala  
 100 105 110

Phe Val Glu Val Ile Val Thr Arg Gly Leu Thr Gly Val Arg Gly Ser  
 115 120 125

Lys Pro Glu Asp Leu Tyr Asn Asn Asn Ile Tyr Leu Leu Val Leu Pro  
 130 135 140

Tyr Val Trp Val Met Ala Pro Glu Asn Gln Leu Leu Gly Gly Ser Ala  
 145 150 155 160

Ile Ile Thr Arg Thr Val Arg Arg Thr Pro Pro Gly Ala Phe Asp Pro  
 165 170 175

Thr Ile Lys Asn Leu Gln Trp Gly Asp Leu Thr Lys Gly Leu Phe Glu  
 180 185 190

ES 2 816 102 T3

Ala Met Asp Arg Gly Ala Thr Tyr Pro Phe Leu Thr Asp Gly Asp Thr  
 195 200 205

Asn Leu Thr Glu Gly Ser Gly Phe Asn Ile Val Leu Val Lys Asn Gly  
 210 215 220

Ile Ile Tyr Thr Pro Asp Arg Gly Val Leu Arg Gly Ile Thr Arg Lys  
 225 230 235 240

Ser Val Ile Asp Val Ala Arg Ala Asn Asn Ile Asp Ile Arg Leu Glu  
 245 250 255

Val Val Pro Val Glu Gln Val Tyr His Ser Asp Glu Ile Phe Met Cys  
 260 265 270

Thr Thr Ala Gly Gly Ile Met Pro Ile Thr Leu Leu Asp Gly Gln Pro  
 275 280 285

Val Asn Asp Gly Gln Val Gly Pro Ile Thr Lys Lys Ile Trp Asp Gly  
 290 295 300

Tyr Trp Glu Met His Tyr Asn Pro Ala Tyr Ser Phe Pro Val Asp Tyr  
 305 310 315 320

Gly Ser Gly

<210> 4

<211> 326

<212> PRT

5 <213> *Aspergillus oryzae*

<400> 4

ES 2 816 102 T3

Met Thr Ser Met Asn Lys Val Phe Ser Gly Tyr Tyr Glu Arg Lys Ala  
1 5 10 15

Arg Leu Asp Asn Ser Asp Asn Arg Phe Ala Lys Gly Ile Ala Tyr Val  
20 25 30

Gln Gly Ser Phe Val Pro Leu Ala Asp Ala Arg Val Pro Leu Leu Asp  
35 40 45

Glu Gly Phe Met His Ser Asp Leu Thr Tyr Asp Val Pro Ser Val Trp  
50 55 60

Asp Gly Arg Phe Phe Arg Leu Asp Asp His Leu Ser Arg Leu Glu Asp  
65 70 75 80

ES 2 816 102 T3

Ser Cys Glu Lys Met Arg Leu Lys Ile Pro Leu Ser Arg Asp Glu Val  
85 90 95

Lys Gln Thr Leu Arg Glu Met Val Ala Lys Ser Gly Ile Glu Asp Ala  
100 105 110

Phe Val Glu Leu Ile Val Thr Arg Gly Leu Lys Gly Val Arg Gly Asn  
115 120 125

Lys Pro Glu Asp Leu Phe Asp Asn His Leu Tyr Leu Ile Val Met Pro  
130 135 140

Tyr Val Trp Val Met Glu Pro Ala Ile Gln His Thr Gly Gly Thr Ala  
145 150 155 160

Ile Ile Ala Arg Thr Val Arg Arg Thr Pro Pro Gly Ala Phe Asp Pro  
165 170 175

Thr Ile Lys Asn Leu Gln Trp Gly Asp Leu Thr Arg Gly Leu Phe Glu  
180 185 190

Ala Ala Asp Arg Gly Ala Asp Tyr Pro Phe Leu Ser Asp Gly Asp Thr  
195 200 205

Asn Leu Thr Glu Gly Ser Gly Phe Asn Ile Val Leu Val Lys Asp Gly  
210 215 220

Ile Ile Tyr Thr Pro Asp Arg Gly Val Leu Glu Gly Ile Thr Arg Lys  
225 230 235 240

Ser Val Phe Asp Ile Ala Gln Val Lys Asn Ile Glu Val Arg Val Gln  
245 250 255

Val Val Pro Leu Glu His Ala Tyr His Ala Asp Glu Ile Phe Met Cys  
260 265 270

Thr Thr Ala Gly Gly Ile Met Pro Ile Thr Lys Leu Asp Gly Lys Pro  
275 280 285

Ile Arg Asn Gly Glu Val Gly Pro Leu Thr Thr Lys Ile Trp Asp Glu  
290 295 300

Tyr Trp Ala Met His Tyr Asp Pro Lys Tyr Ser Ser Ala Ile Asp Tyr  
305 310 315 320

Arg Gly His Glu Gly Asn  
325

<210> 5

<211> 325

ES 2 816 102 T3

<212> PRT

<213> *Aspergillus terreus*

<400> 5

Met Ala Ser Met Asp Lys Val Phe Ala Gly Tyr Ala Ala Arg Gln Ala  
 1 5 10 15

Ile Leu Glu Ser Thr Glu Thr Thr Asn Pro Phe Ala Lys Gly Ile Ala  
 20 25 30

Trp Val Glu Gly Glu Leu Val Pro Leu Ala Glu Ala Arg Ile Pro Leu  
 35 40 45

Leu Asp Gln Gly Phe Met His Ser Asp Leu Thr Tyr Asp Val Pro Ser  
 50 55 60

Val Trp Asp Gly Arg Phe Phe Arg Leu Asp Asp His Ile Thr Arg Leu  
 65 70 75 80

Glu Ala Ser Cys Thr Lys Leu Arg Leu Arg Leu Pro Leu Pro Arg Asp  
 85 90 95

Gln Val Lys Gln Ile Leu Val Glu Met Val Ala Lys Ser Gly Ile Arg  
 100 105 110

Asp Ala Phe Val Glu Leu Ile Val Thr Arg Gly Leu Lys Gly Val Arg  
 115 120 125

Gly Thr Arg Pro Glu Asp Ile Val Asn Asn Leu Tyr Met Phe Val Gln  
 130 135 140

Pro Tyr Val Trp Val Met Glu Pro Asp Met Gln Arg Val Gly Gly Ser  
 145 150 155 160

Ala Val Val Ala Arg Thr Val Arg Arg Val Pro Pro Gly Ala Ile Asp  
 165 170 175

Pro Thr Val Lys Asn Leu Gln Trp Gly Asp Leu Val Arg Gly Met Phe  
 180 185 190

Glu Ala Ala Asp Arg Gly Ala Thr Tyr Pro Phe Leu Thr Asp Gly Asp  
 195 200 205

Ala His Leu Thr Glu Gly Ser Gly Phe Asn Ile Val Leu Val Lys Asp  
 210 215 220

ES 2 816 102 T3

Gly Val Leu Tyr Thr Pro Asp Arg Gly Val Leu Gln Gly Val Thr Arg  
 225 230 235 240

Lys Ser Val Ile Asn Ala Ala Glu Ala Phe Gly Ile Glu Val Arg Val  
 245 250 255

Glu Phe Val Pro Val Glu Leu Ala Tyr Arg Cys Asp Glu Ile Phe Met  
 260 265 270

Cys Thr Thr Ala Gly Gly Ile Met Pro Ile Thr Thr Leu Asp Gly Met  
 275 280 285

Pro Val Asn Gly Gly Gln Ile Gly Pro Ile Thr Lys Lys Ile Trp Asp  
 290 295 300

Gly Tyr Trp Ala Met His Tyr Asp Ala Ala Tyr Ser Phe Glu Ile Asp  
 305 310 315 320

Tyr Asn Glu Arg Asn  
 325

<210> 6

<211> 339

<212> PRT

5 <213> *Mycobacterium vanbaalenii*

<400> 6

ES 2 816 102 T3

Met	Thr	Thr	Leu	Thr	Asn	Ala	Gly	Thr	Ser	Asn	Leu	Val	Ala	Val	Glu
1				5					10					15	
Pro	Gly	Ala	Ile	Arg	Glu	Asp	Thr	Pro	Ala	Gly	Ser	Val	Ile	Gln	Tyr
			20					25					30		
Ser	Asp	Tyr	Glu	Leu	Asp	Gln	Ser	Ser	Pro	Phe	Ala	Gly	Gly	Val	Ala
		35					40					45			
Trp	Ile	Glu	Gly	Glu	Phe	Val	Pro	Ala	Glu	Asp	Ala	Arg	Ile	Ser	Ile
	50					55					60				
Phe	Asp	Thr	Gly	Phe	Gly	His	Ser	Asp	Leu	Thr	Tyr	Thr	Val	Ala	His
65					70					75					80
Val	Trp	His	Gly	Asn	Ile	Phe	Arg	Leu	Gly	Asp	His	Leu	Asp	Arg	Leu
				85					90					95	
Leu	Asp	Gly	Ala	Arg	Lys	Leu	Arg	Leu	Asp	Ala	Gly	Tyr	Thr	Lys	Asp
			100					105					110		

ES 2 816 102 T3

Glu Leu Ala Asp Ile Thr Lys Gln Cys Val Ser Met Ser Gln Leu Arg  
 115 120 125

Glu Ser Phe Val Asn Leu Thr Val Thr Arg Gly Tyr Gly Lys Arg Arg  
 130 135 140

Gly Glu Lys Asp Leu Ser Lys Leu Thr His Gln Val Tyr Ile Tyr Ala  
 145 150 155 160

Ile Pro Tyr Leu Trp Ala Phe Pro Pro Ala Glu Gln Ile Phe Gly Thr  
 165 170 175

Thr Ala Ile Val Pro Arg His Val Arg Arg Ala Gly Arg Asn Thr Val  
 180 185 190

Asp Pro Thr Ile Lys Asn Tyr Gln Trp Gly Asp Leu Thr Ala Ala Ser  
 195 200 205

Phe Glu Ala Lys Asp Arg Gly Ala Arg Thr Ala Ile Leu Leu Asp Ser  
 210 215 220

Asp Asn Cys Val Ala Glu Gly Pro Gly Phe Asn Val Cys Ile Val Lys  
 225 230 235 240

Asp Gly Lys Leu Ala Ser Pro Ser Arg Asn Ala Leu Pro Gly Ile Thr  
 245 250 255

Arg Lys Thr Val Phe Glu Leu Ala Asp Gln Met Gly Ile Glu Ala Thr  
 260 265 270

Leu Arg Asp Val Thr Ser His Glu Leu Tyr Asp Ala Asp Glu Leu Met  
 275 280 285

Ala Val Thr Thr Ala Gly Gly Val Thr Pro Ile Asn Ser Leu Asp Gly  
 290 295 300

Glu Ala Ile Gly Asn Gly Glu Pro Gly Pro Met Thr Val Ala Ile Arg  
 305 310 315 320

Asp Arg Phe Trp Ala Leu Met Asp Glu Pro Gly Pro Leu Ile Glu Ala  
 325 330 335

Ile Glu Tyr

<210> 7

<211> 464

ES 2 816 102 T3

<212> PRT

<213> *Silicibacter pomeroyi*

<400> 7

```

Met Ala Thr Ile Thr Asn His Met Pro Thr Ala Glu Leu Gln Ala Leu
1          5          10          15

Asp Ala Ala His His Leu His Pro Phe Ser Ala Asn Asn Ala Leu Gly
          20          25          30

Glu Glu Gly Thr Arg Val Ile Thr Arg Ala Arg Gly Val Trp Leu Asn
          35          40          45

Asp Ser Glu Gly Glu Glu Ile Leu Asp Ala Met Ala Gly Leu Trp Cys
          50          55          60

Val Asn Ile Gly Tyr Gly Arg Asp Glu Leu Ala Glu Val Ala Ala Arg
65          70          75          80

Gln Met Arg Glu Leu Pro Tyr Tyr Asn Thr Phe Phe Lys Thr Thr His
          85          90          95

Val Pro Ala Ile Ala Leu Ala Gln Lys Leu Ala Glu Leu Ala Pro Gly
          100          105          110

Asp Leu Asn His Val Phe Phe Ala Gly Gly Gly Ser Glu Ala Asn Asp
          115          120          125

Thr Asn Ile Arg Met Val Arg Thr Tyr Trp Gln Asn Lys Gly Gln Pro
          130          135          140

Glu Lys Thr Val Ile Ile Ser Arg Lys Asn Ala Tyr His Gly Ser Thr
145          150          155          160

Val Ala Ser Ser Ala Leu Gly Gly Met Ala Gly Met His Ala Gln Ser
          165          170          175

Gly Leu Ile Pro Asp Val His His Ile Asn Gln Pro Asn Trp Trp Ala
          180          185          190

Glu Gly Gly Asp Met Asp Pro Glu Glu Phe Gly Leu Ala Arg Ala Arg
          195          200          205

Glu Leu Glu Glu Ala Ile Leu Glu Leu Gly Glu Asn Arg Val Ala Ala
210          215          220

Phe Ile Ala Glu Pro Val Gln Gly Ala Gly Gly Val Ile Val Ala Pro
225          230          235          240

```

ES 2 816 102 T3

Asp Ser Tyr Trp Pro Glu Ile Gln Arg Ile Cys Asp Lys Tyr Asp Ile  
 245 250 255

Leu Leu Ile Ala Asp Glu Val Ile Cys Gly Phe Gly Arg Thr Gly Asn  
 260 265 270

Trp Phe Gly Thr Gln Thr Met Gly Ile Arg Pro His Ile Met Thr Ile  
 275 280 285

Ala Lys Gly Leu Ser Ser Gly Tyr Ala Pro Ile Gly Gly Ser Ile Val  
 290 295 300

Cys Asp Glu Val Ala His Val Ile Gly Lys Asp Glu Phe Asn His Gly  
 305 310 315 320

Tyr Thr Tyr Ser Gly His Pro Val Ala Ala Ala Val Ala Leu Glu Asn  
 325 330 335

Leu Arg Ile Leu Glu Glu Glu Asn Ile Leu Asp His Val Arg Asn Val  
 340 345 350

Ala Ala Pro Tyr Leu Lys Glu Lys Trp Glu Ala Leu Thr Asp His Pro  
 355 360 365

Leu Val Gly Glu Ala Lys Ile Val Gly Met Met Ala Ser Ile Ala Leu  
 370 375 380

Thr Pro Asn Lys Ala Ser Arg Ala Lys Phe Ala Ser Glu Pro Gly Thr  
 385 390 395 400

Ile Gly Tyr Ile Cys Arg Glu Arg Cys Phe Ala Asn Asn Leu Ile Met  
 405 410 415

Arg His Val Gly Asp Arg Met Ile Ile Ser Pro Pro Leu Val Ile Thr  
 420 425 430

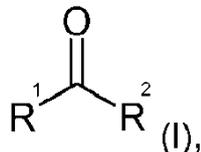
Pro Ala Glu Ile Asp Glu Met Phe Val Arg Ile Arg Lys Ser Leu Asp  
 435 440 445

Glu Ala Gln Ala Glu Ile Glu Lys Gln Gly Leu Met Lys Ser Ala Ala  
 450 455 460

## REIVINDICACIONES

1. Procedimiento de preparación de un compuesto de sal amino que comprende:

i) proporcionar un compuesto de carbonilo de fórmula general (I)



5 en la que

$\text{R}^1$  se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, alquino C2-C20 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalqueno C5-C20, cicloalquino C5-C20, arilo C5-C20, alquilarilo C6-C20, arilalquilo C6-C20, heteroalquilo C2-C20, heteroalquilo cíclico C3-C20, heteroarilo C4-C20, alquilheteroarilo C5-C20 y heteroarilalquilo C5-C20, en el que en el caso de más de un sistema de anillo (hetero)alifático o (hetero)aromático, los sistemas de anillo son condensados o separados, en el que cada residuo  $\text{R}^1$  tiene al menos un sustituyente  $\text{R}^{1a}$  seleccionado del grupo que consiste en un átomo de hidrógeno, un átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tior, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3; y

10  $\text{R}^2$  selecciona del grupo que consiste en un átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, arilo C5-C10, alquilarilo C6-C10 y arilalquilo C6-C10, en el que en el caso de más de un sistema de anillo aromático, los sistemas de anillo  $\text{R}^2$  están condensados o separados, en el que cada residuo  $\text{R}^2$  tiene al menos un sustituyente  $\text{R}^{2a}$  seleccionado del grupo que consiste en un átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tior, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3; o

$\text{R}^1$ ,  $\text{R}^2$  juntos forman un cicloalquilo C3-C10 o cicloalqueno C3-C10, en el que el cicloalquilo C3-C10 o cicloalqueno C3-C10 tienen cada uno al menos un sustituyente  $\text{R}^x$  seleccionado del grupo que consiste en un átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5, heteroalquilo C1-C4 y alquilo C1-C5- $\text{R}^y$ , en la que  $\text{R}^y$  es hidroxilo o tior;

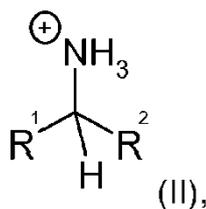
15 ii) hacer reaccionar el compuesto de carbonilo proporcionado de acuerdo con (i) en presencia de una transaminasa con

ii-a) al menos una amina primaria; y

ii-b) al menos un ácido carboxílico;

obteniendo así una mezcla que comprende un compuesto de sal amino al menos parcialmente cristalizado que comprende

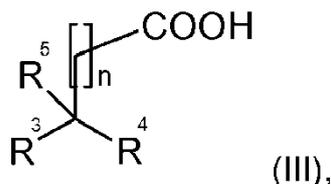
30 - un catión de fórmula general (II)



en la que  $\text{R}^1$  y  $\text{R}^2$  son como se definen para la fórmula general (I) y

- un anión carboxilato en base a el al menos un ácido carboxílico añadido de acuerdo con (ii-b);

en la que el al menos un ácido carboxílico de acuerdo con (ii-b) es un ácido carboxílico de fórmula general (III)

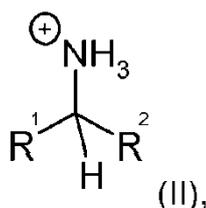


35 en la que

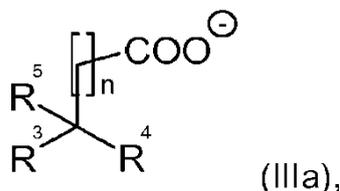
n es cero o 1;

los residuos R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son ambos fenilos o juntos forman un anillo fenilo, en el que cada anillo fenilo tiene al menos un sustituyente adicional seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno y grupo nitro; y el residuo R<sup>5</sup> es un átomo de hidrógeno o metilo o está ausente si R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> juntos forman un anillo fenilo.

- 5 2. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que el compuesto de sal amino obtenido de acuerdo con (ii) tiene una solubilidad en agua a pH 7 que es menor que la solubilidad en agua de la al menos una amina primaria añadida de acuerdo con (ii-a).
- 10 3. El procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que el residuo R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C5-C10 y arilo C5-C20, en el que en el caso de más de un sistema de anillo alifático o aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3.
- 15 4. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que el residuo R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, en el que cada residuo R<sup>2</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>2a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3.
5. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la transaminasa de acuerdo con (ii) se selecciona del grupo de amina transaminasas.
- 20 6. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la al menos una amina primaria de acuerdo con (ii-a) se selecciona del grupo de mono y diaminas que tienen de uno a 10 átomos de carbono.
- 25 7. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que el al menos un ácido carboxílico de acuerdo con (ii-b) se selecciona del grupo que consiste en ácido difenilacético (DPAA), ácido 2,2-difenilpropiónico (2DPPA), ácido 3,3-difenilpropiónico (3DPPA), ácido 3,4-dicloro-benzoico (34CA), ácido 3,4-dinitro-benzoico (34NA) y ácido 4-cloro-3-nitrobenzoico (43CNA).
8. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la al menos una amina primaria de acuerdo con (ii-a) y el al menos un ácido carboxílico de acuerdo con (ii-b) se usan como una o más sales o sales que comprende la forma protonada de la al menos una amina primaria y la forma desprotonada del al menos un carboxílico.
- 30 9. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, en el que el compuesto de sal amino obtenido de acuerdo con (ii) comprende un catión de fórmula general (II)



en la que R<sup>1</sup> y R<sup>2</sup> son como se definen para la fórmula general (I), y un anión a base del al menos un ácido carboxílico, que es un anión de fórmula general (IIIa)



35 en la que

n es cero o 1;

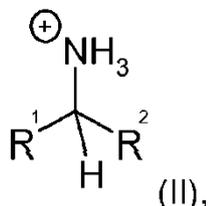
40 los residuos R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son ambos fenilos o juntos forman un anillo fenilo, en el que cada anillo fenilo tiene al menos un sustituyente adicional seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno, preferiblemente cloro y grupo nitro y el residuo R<sup>5</sup> es átomo de hidrógeno o metilo o ausente si R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> juntos forman un anillo fenilo.

10. El procedimiento de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que comprende además:

iii) separar el compuesto de sal de amina al menos parcialmente cristalizado obtenido de acuerdo con (ii) de la mezcla obteniendo así el compuesto de sal de amina cristalizado.

11. Un compuesto de sal amino que comprende

- un catión de fórmula general (II)



5

en la que

R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alquenoilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alquinoilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalquenoilo C5-C20, cicloalquinoilo C5-C20, arilo C5-C20, alquilarilo C6-C20, arilalquilo C6-C20, heteroalquilo C2-C20, heteroalquilo cíclico C3-C20, heteroarilo C4-C20, alquilheteroarilo C5-C20 y heteroarilalquilo C5-C20, en el que en el caso de más de un sistema de anillo (hetero)alifático o (hetero)aromático, los sistemas de anillo son condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tior, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3; y

10

15

R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en un átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, arilo C5-C10, alquilarilo C6-C10 y arilalquilo C6-C10, en el que en el caso de más de un sistema de anillo alifático o aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>2</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>2a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tior, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3; o

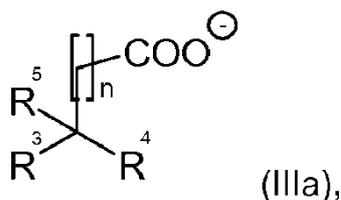
20

R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> juntos forman un cicloalquilo C3-C10 o cicloalquenoilo C3-C10, en el que el cicloalquilo C3-C10 o el cicloalquenoilo C3-C10 tienen cada uno al menos un sustituyente R<sup>x</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5, heteroalquilo C1-C4 y alquilo C1-C5-R<sup>y</sup>, en la que R<sup>y</sup> es hidroxilo o tior;

25

y

- un anión de fórmula general (IIIa)



30

en la que

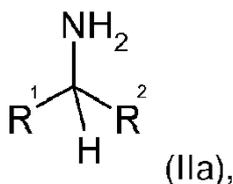
n es cero o 1;

los residuos R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son ambos fenilos o juntos forman un anillo fenilo, en el que cada anillo fenilo tiene al menos un sustituyente adicional seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno y grupo nitro y el residuo R<sup>5</sup> es átomo de hidrógeno o metilo o ausente si R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> juntos forman un anillo fenilo.

35

12. Una composición que comprende

a) una amina de fórmula general (IIa)



en la que

5 R<sup>1</sup> se selecciona del grupo que consiste en alquilo C2-C20 ramificado o no ramificado, alqueno C2-C20 ramificado o no ramificado, alquino C2-C20 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, cicloalquilo C4-C20, cicloalqueno C5-C20, cicloalquino C5-C20, arilo C5-C20, alquilarilo C6-C20, arilalquilo C6-C20, heteroalquilo C2-C20, heteroalquilo cíclico C3-C20, heteroarilo C4-C20, alquilheteroarilo C5-C20 y heteroarilalquilo C5-C20, en el que en el caso de más de un sistema de anillo (hetero)alifático o (hetero)aromático, los sistemas de anillo son condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>1</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>1a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3; y

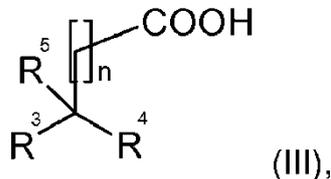
10 R<sup>2</sup> se selecciona del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alquilo C1-C5-O-alquilo C1-C5 ramificado o no ramificado, alcoxi C1-C10 ramificado o no ramificado, arilo C5-C10, alquilarilo C6-C10 y arilalquilo C6-C10, en el que en el caso de más de un sistema de anillo aromático, los sistemas de anillo están condensados o separados, en el que cada residuo R<sup>2</sup> tiene al menos un sustituyente R<sup>2a</sup> seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno (F, Cl, Br, I), hidroxilo, tiol, tioéster C1-C3, tioéter C1-C3, alquilo C1-C3 y alcoxi C1-C3; o

15 R<sup>1</sup>, R<sup>2</sup> juntos forman un cicloalquilo C3-C10 o cicloalqueno C3-C10, en el que el cicloalquilo C3-C10 o cicloalqueno C3-C10 tienen cada uno al menos un sustituyente R<sup>x</sup> seleccionado del grupo que consiste en un átomo de hidrógeno, alquilo C1-C5, heteroalquilo C1-C4 y alquilo C1-C5-R<sup>y</sup>, en la que R<sup>y</sup> es hidroxilo o tiol;

20

y

b) al menos un ácido carboxílico de fórmula general (III)



25 en la que

n es cero o 1;  
 los residuos R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> son ambos fenilo o juntos forman un anillo fenilo, en el que cada anillo fenilo tiene al menos un sustituyente adicional seleccionado del grupo que consiste en átomo de hidrógeno, átomo de halógeno y grupo nitro; y el residuo R<sup>5</sup> es átomo de hidrógeno o metilo o está ausente si R<sup>3</sup> y R<sup>4</sup> juntos forman un anillo fenilo, en el que el al menos un ácido carboxílico está presente en su forma protonada o como carboxilato con un contraión adecuado.

30

13. La composición de acuerdo con la reivindicación 12, en la que la composición comprende la amina de acuerdo con (a) en una cantidad en el intervalo del 90 al 99,9 % en peso.

35 14. La composición de acuerdo con la reivindicación 12 o 13, en la que la composición comprende el al menos un ácido carboxílico de acuerdo con (b) en una cantidad de al menos 0,003 % en peso.

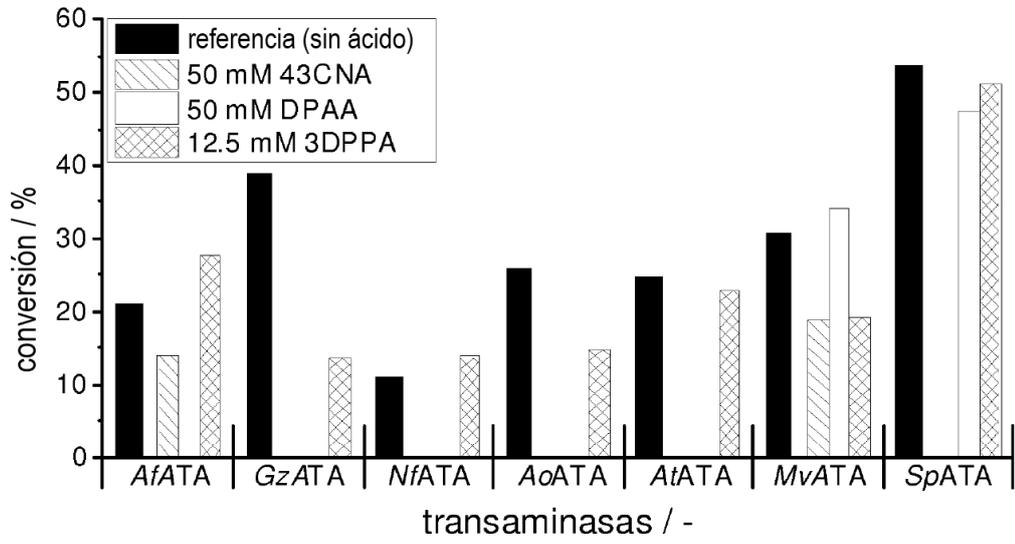


Fig. 1

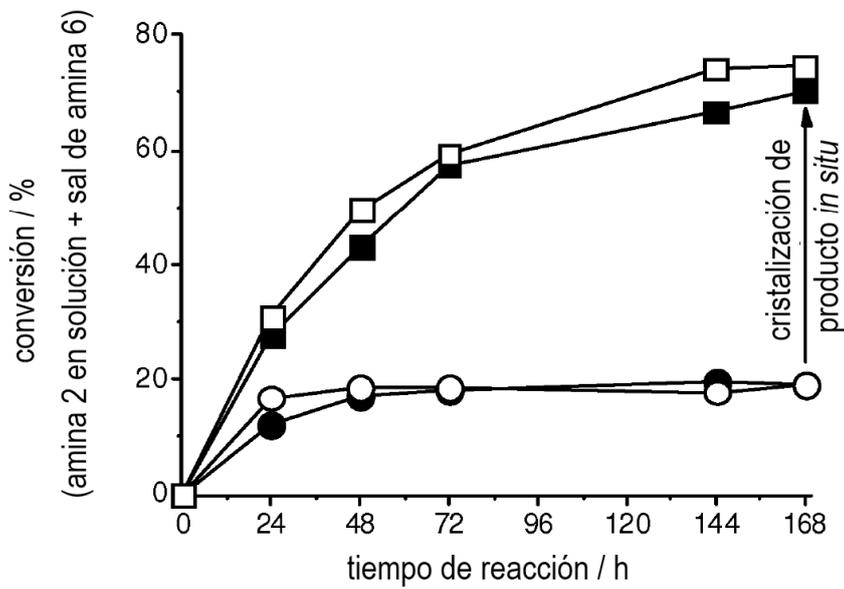


Fig. 2

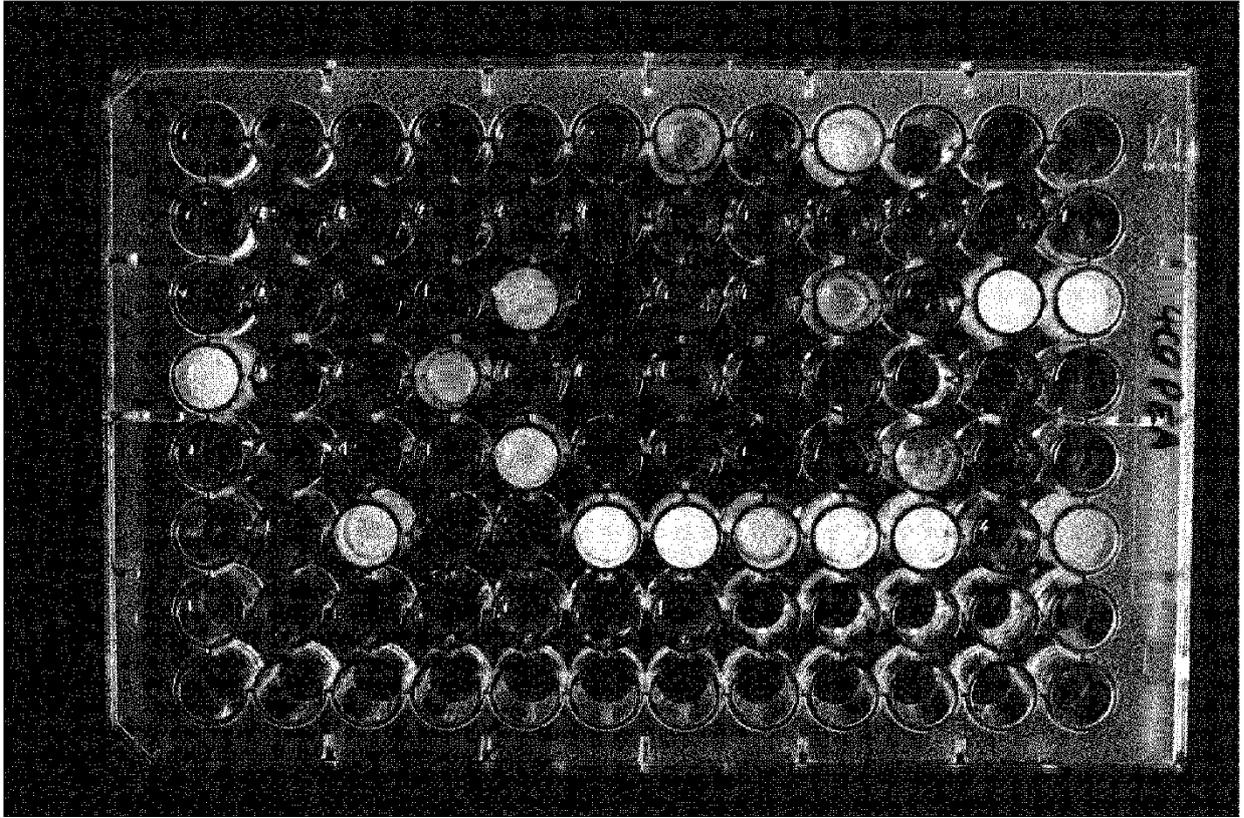


Fig. 3