



(11) *Número de Publicação:* PT 808308 E

(51) *Classificação Internacional:* (Ed. 6)
C07D231/12 A

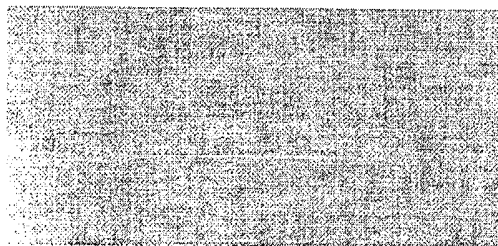
(12) *FASCÍCULO DE PATENTE DE INVENÇÃO*

(22) <i>Data de depósito:</i> 1996.12.04	(73) <i>Titular(es):</i> LABORATORIOS DEL DR. ESTEVE, S.A. AV. MARE DE DEU DE MONTSERRAT, 221 E-08026 BARCELONA ES
(30) <i>Prioridade:</i> 1995.12.06 FR 9514414	
(43) <i>Data de publicação do pedido:</i> 1997.11.26	(72) <i>Inventor(es):</i> JORDI FRIGOLA-CONSTANSA JUANA MARIA BERROCAL ROMERO MARIA ROSA CUBERES ALTISENT VICENTE GOTOR SANTAMARIA ES ES ES ES
(45) <i>Data e BPI da concessão:</i> 2001.03.07	(74) <i>Mandatário(s):</i> MANUEL GOMES MONIZ PEREIRA RUA DO ARCO DA CONCEIÇÃO 3, 1º AND. 1100 LISBOA PT

(54) *Epígrafe:* PROCESSO DE SEPARAÇÃO DE CARBINÓIS

(57) *Resumo:*

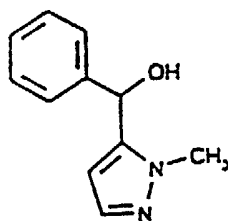
PROCESSO DE SEPARAÇÃO DE CARBINÓIS



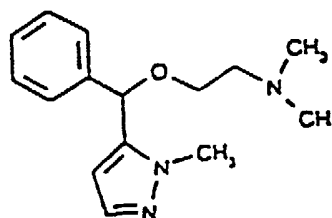
DESCRIÇÃO

PROCESSO DE SEPARAÇÃO DE CARBINÓIS

A presente invenção está relacionada com um processo para separar um carbinol de fórmula 1 nos seus enantiómeros, assim como com a racemização de um destes efectuando um processo sequencial com o objectivo de obter o enantiómero desejado com rendimentos elevados. Os estereoisómeros de 1 são os compostos chave para a síntese dos enantiómeros do composto de fórmula 2.



1



2

O (±)-5-[[N,N-dimetilaminoetoxi]-fenil]metil}-1-metil-1H-pirazole, de fórmula 2, é um composto com propriedades analgésicas, actualmente em fase de estudo clínico descrito na patente europeia EP 289 380. Os dois enantiómeros de 2 foram sintetizados e avaliados como analgésicos [J.A. Hueso, J. Berrocal, B. Gutiérrez, A.J. Farré & J. Frigola, Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters, 1993, 3, 269-272], e daí resultou que o enantiómero dextrogiro é o mais activo.

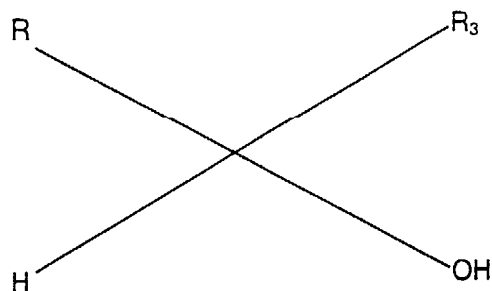
Os enantiómeros (+)-2 e (-)-2 são obtidos por alquilação de (+)-1 e (-)-1, respectivamente. O estereoisómero (+)-1 foi obtido com um rendimento muito baixo a partir de (R)-mandelato de etilo, o que determinou desta forma a configuração absoluta (R)-(+)-1. Os enantiómeros de 1 também foram obtidos por meio de processos complexos de separação, por cromatografia em coluna ou cristalizações fraccionadas, dos ésteres diastereoisoméricos formados por reacção de 1 com o ácido (+)-O-acetilmandélico. Os rendimentos foram de 22% para o enantiómero (-)-1 e de 25% para o enantiómero (+)-1.

Por outro lado, a utilização de biocatalisadores aplicados à separação de misturas racémicas foi amplamente descrita [a) "Microbial reagents in organic synthesis", editado por Stefano Servi, Kluwer Academic Publishers, Londres, 1992. b) "Enzymes in synthetic organic chemistry", editado por C.H. Wong e G.M. Whitesides, Elsevier Science, Oxford 1994. c) "Biotransformations in Organic Chemistry", editado por K. Faber, Lange e Springer, 1995].

Existem numerosas classes distintas de enzimas utilizadas para a separação de estereoisómeros; elas compreendem as hidrolases (em particular, as lipases, as proteases e as esterasas), as liases e as oxiredutases. As hidrolases são as enzimas mais atractivas para utilização nas separações, porque se encontram disponíveis comercialmente a baixo custo e algumas delas apresentam uma tolerância razoável aos solventes orgânicos.

A utilização de solventes orgânicos nas reacções catalisadas por enzimas apresenta diversas vantagens: a) a maior parte dos substratos orgânicos são mais solúveis em solventes orgânicos do que em água; b) a recuperação dos produtos de reacção está extraordinariamente facilitada; c) as enzimas são recolhidas com facilidade para serem reutilizadas; d) em certos casos, a enantioselectividade é elevada. Apesar das vantagens da utilização de enzimas em solventes orgânicos, também existem, no entanto, algumas desvantagens: a) a pesquisa de um solvente adaptado; b) a fraca velocidade de reacção; c) a diminuição da pureza óptica do produto desejado nas reacções de natureza reversível [para uma revisão ver: a) A.M. Klibanov, Trends Biochem. Sci. 1989, 14, 141. b) C.S. Chen, C.J. Sih, Angew. Hem. Int. Ed. Engl., 1989, 28, 695]. A constatação definitiva que certas enzimas podem actuar em solventes orgânicos foi uma das causas principais do aumento espectacular, durante a última década, da utilização das biotransformações para a preparação de produtos de interesse terapêutico e industrial [para uma revisão ver: a) A.N. Collins, G.N. Sheldrake, S. Crosby, "Chirality in Industry", Wiley, Londres, 1992. b) S.C. Stinson, Chem. & Eng. News, 1994, 38. c) A.L. Margolin, Enzyme Microb. Technol. 1993, 15, 266].

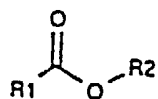
A patente US 4,963,492 descreve a resolução enzimática de um álcool secundário racémico de fórmula



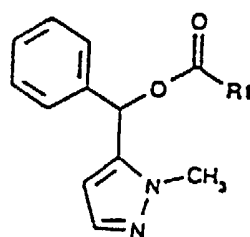
na qual R_3 e R_4 formam um ciclo, ou na qual R_3 representa um radical alquilo ou cicloalquilo e R_4 representa diversos substituintes que incluem um núcleo aromático. Contudo, esta patente trata de álcoois secundários estericamente pouco impedidos no sentido em que R_3 e R_4 não representam nunca um núcleo aromático.

O objectivo da presente invenção consiste em propor um processo comercialmente útil para a obtenção do estereoisómero dextrogiro (R)-(+)-1, processo este que poderia ser igualmente útil para obter o estereoisómero levogiro (S)-(-)-1.

O processo ao qual se refere a presente invenção baseia-se na biocatálise, utilizando um biocatalisador, para efectuar, de forma selectiva, uma transesterificação entre o álcool racémico 1 e um éster de fórmula 3, na qual R_1 representa um radical metilo ou etilo e R_2 representa um radical vinilo ou isopropenilo. Por meio de uma enzima que permite a estereoselectividade apropriada, pode obter-se uma mistura reaccional contendo o enantiómero de 1 que não reagiu e o éster de fórmula 4, na qual R_1 representa um radical metilo ou etilo, formado a partir do outro enantiómero de 1.



3



4

A separação e a recuperação do álcool que não reagiu e do éster formado permite então uma utilização relativamente fácil de processos químicos convencionais, tais como a

cromatografia ou a cristalização. Um outro aspecto da invenção consiste em efectuar a hidrólise do éster obtido, utilizando um catalisador ácido ou básico, de forma a que se produza uma racemização, recuperando assim o composto 1, ou a retenção da configuração. No caso em que se obtém a mistura racémica 1, esta pode ser, em seguida, tratada com o biocatalisador mencionado para dar lugar a um processo de transesterificação, como descrito anteriormente, e assim sucessivamente.

Desta forma, obtém-se uma transformação quase completa do substrato 1 racémico dando o enantiómero desejado.

A estratégia utilizada na presente invenção consiste na combinação sequencial de uma transesterificação enzimática do carbinol 1 e de uma transformação química com racemização. As enzimas mais apropriadas para efectuar a transesterificação são as hidrolases, principalmente as lipases produzidas por microrganismos, tanto livres como imobilizadas. Os ésteres utilizados como agentes de acilação são os ésteres de enóis de fórmula 3, na qual R_1 representa um radical metilo ou etilo e R_2 representa um radical vinilo ou isopropenilo. A reacção de transesterificação efectua-se na ausência de um solvente ou num solvente apropriado, como o hexano, o ciclohexano, o tolueno, a acetona, o dioxano, o tetrahydrofurano, o etanol, etc., a uma temperatura compreendida entre 20°C e a temperatura de refluxo, durante o tempo necessário para que se produza a transformação; este tempo pode oscilar entre 6 e 48 horas. A adição de peneiros moleculares ao meio reaccional pode aumentar a actividade e diminuir o teor em água. A progressão da reacção de acilação controla-se facilmente por ressonância magnética nuclear de protão. O enantiómero de 1 que não reagiu separa-se do outro enantiómero esterificado 4 por cromatografia em coluna de sílica-gel ou por cristalização num solvente apropriado. A pureza óptica é analisada por HPLC (cromatografia líquida de alta resolução) quiral.

O enantiómero esterificado 4 é hidrolisado para dar lugar, em seguida, à formação do carbinol racémico 1 ou do carbinol correspondente homoquiral. A hidrólise efectua-se, respectivamente, em meio ácido ou em meio básico, a uma temperatura compreendida entre 60°C e a temperatura de refluxo, durante um período de tempo compreendido entre 2 e 24 horas.

Por alquilação com dimetilaminocloroetano, em condições de transferência de fase, dos estereoisómeros (+)-1 e (-)-1 e por tratamento subsequente com ácido cítrico obtêm-se os estereoisómeros (+)-2.citrato e (-)-2.citrato, respectivamente.

A descrição que precede o processo de transesterificação do carbinol racémico 1 para se obter um carbinol homoquiral e a hidrólise do éster homoquiral formado para se obter o álcool correspondente homoquiral ou o álcool racémico, assim como a descrição detalhada dos exemplos que se indicam a seguir, fornecidos unicamente a título de ilustração, não devem limitar de forma alguma o âmbito da presente invenção.

Exemplo 1.

Separação de (±)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, (±)-1, com a lipase PS:

Agita-se a 60°C uma mistura de 100 g de carbinol (±)-1, 50 g de lipase PS activada, comercializada por AMANO PHARMACEUTICAL COMPANY Ltd. (NAGOYA-JP), 50 g de peneiros moleculares de 3 Å activados e 1000 ml de acetato de vinilo, durante 24 horas. Após verificação por 1H-RMN que o substrato foi acetilado em 55%, filtra-se para recolher a lipase e os peneiros moleculares e evapora-se o acetato de vinilo sob pressão reduzida. Dissolve-se o resíduo em ciclohexano, e a partir daí obtêm-se, por cristalização, 36 g (72%) de (+)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, (+)-1, com uma pureza óptica superior a 96% (excesso enantiomérico determinado por HPLC = 92%); ponto de fusão: 80-83°C; IV (KBr) 3237, 1456, 1394, 1294, 1193, 1058, 1006, 785, 765, 708, 701 cm⁻¹; [α]_D + 16,2 (c = 1, CHCl₃). A evaporação do solvente origina 76,5 g de, maioritariamente, (-)-5-(fenil)metilcarboniloximetil-1-metil-1H-pirazole, (-)-4, onde R₁ representa um radical metilo.

Exemplo 2.

Hidrólise e racemização de (-)-5-(fenil)metilcarboniloximetil-1-metil-1H-pirazole, (-)-4:

Colocam-se 76,5 g de (-)-5-(fenil)metilcarboniloximetil-1-metil-1H-pirazole, (-)-4, sob refluxo em 300 ml de ácido clorídrico 6N durante 12 horas. Filtra-se com aquecimento e alcaliniza-se a solução com hidróxido de amónio para se obterem 61,4 g de carbinol racémico (±)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, (±)-1; ponto de fusão 105-106°C; IV (KBr) 3225, 1457, 1398, 1208, 1200, 1018, 1009, 794, 751, 702 cm⁻¹; excesso enantiomérico determinado por HPLC = 0.

Exemplo 3.

Separação de (±)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, (±)-1, com a lipase PS:

Agita-se a 56°C uma mistura de 61,4 g de carbinol (±)-1 obtido no exemplo 2, 30,7 g de lipase PS activada, comercializada por AMANO PHARMACEUTICAL COMPANY Ltd. (NAGOYA-JP), 30,7 g de peneiros moleculares de 3 Å activados e 600 ml de acetato de vinilo, durante 36 horas. Após verificação por 1H-RMN que o substrato foi acetilado em 53%, filtra-se para recolher a lipase e os peneiros moleculares e evapora-se o acetato de vinilo sob pressão reduzida. Dissolve-se o resíduo em ciclohexano, e a partir daí obtêm-se, por cristalização, 21,7 g (71%) de (+)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, (+)-1, com uma pureza óptica superior a 95%; ponto de fusão: 79-85°C; $[\alpha]_D + 16,0$ (c = 1, CHCl₃). A evaporação do solvente origina 45,8 g de, maioritariamente, (-)-5-(fenil)metilcarboniloximetil-1-metil-1H-pirazole, (-)-4, onde R₁ representa um radical metilo.

Exemplo 4.

Separação de (±)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, (±)-1, com lipase PS:

Agita-se a 62°C uma mistura de 3,5 g de carbinol (±)-1, 7,4 g de lipase PS activada, comercializada por AMANO PHARMACEUTICAL COMPANY Ltd. (NAGOYA-JP) e 100 ml de acetato de vinilo, durante 13 horas. Após verificação por 1H-RMN que o substrato foi acetilado em 50%, filtra-se para recolher a lipase e os peneiros moleculares e evapora-se o acetato de vinilo sob pressão reduzida. Submete-se o resíduo a uma cromatografia em coluna de sílica-gel, utilizando como eluente éter dietílico:hexano (2:1), para se obterem 2,1 g (98%) de (-)-5-(fenil)metilcarboniloximetil-1-metil-1H-pirazole, (-)-4, onde R₁ representa um radical metilo. Eluindo em seguida com éter dietílico, obtêm-se 1,7 g (98%) de (+)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, (+)-1, com um excesso enantiomérico determinado por HPLC = 94%.

Exemplo 5.

Hidrólise com retenção de configuração de (-)-5-(fenil)metilcarboniloximetil-1-metil-1H-pirazole, (-)-4:

Colocam-se 2,3 g de (-)-5-(fenil)metilcarboniloximetil-1-metil-1H-pirazole, (-)-4, sob refluxo em 4 ml de hidróxido de sódio a 20% e 10 ml de etanol durante 2 horas. Evapora-se o etanol, juntam-se 10 ml de água, extrai-se com éter dietílico, seca-se com sulfato de

magnésio, filtra-se e, a partir da solução, obtêm-se 1,8 g (95%) de (-)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, (-)-1, com uma pureza óptica superior a 94%, $[\alpha]_D - 16,1$ ($c = 1$, CHCl_3).

Exemplo 6.

Obtenção de citrato de (+)-5-{[(N,N-dimetilaminoetoxi)-fenil]metil}-1-metil-1H-pirazole, (+)-2.citrato:

Coloca-se sob refluxo, durante 7 horas, uma mistura de 12,7 g de (+)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, (+)-1, em 250 ml de tolueno, 125 ml de hidróxido de sódio a 50%, 3 g de cloreto de trietilbutilamónio e 14,6 g de cloridrato de dimetilaminocloroetano. Da mistura fria extraem-se, com tolueno, 16,2 g (92,6%) de (+)-5-{[(N,N-dimetilaminoetoxi)-fenil]metil}-1-metil-1H-pirazole, (+)-2.

Agita-se a 40°C uma mistura de 15 g de (+)-5-{[(N,N-dimetilaminoetoxi)-fenil]metil}-1-metil-1H-pirazole, (+)-2, e 13,5 g de ácido cítrico monohidratado em etanol até à dissolução total. Desta solução recuperam-se, por cristalização, 24,7 g (94,5%) de citrato de (+)-5-{[(N,N-dimetilaminoetoxi)-fenil]metil}-1-metil-1H-pirazole, (+)-2.citrato; ponto de fusão 129-131°C; $[\alpha]_D + 8,3$ ($c = 1$, H_2O).

Exemplo 7.

Obtenção de citrato de (-)-5-{[(N,N-dimetilaminoetoxi)-fenil]metil}-1-metil-1H-pirazole, (-)-2.citrato:

Procedendo de forma análoga ao exemplo 6, e utilizando o enantiómero (-)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, (-)-1, obtêm-se como produto de separação o (-)-5-{[(N,N-dimetilaminoetoxi)-fenil]metil}-1-metil-1H-pirazole, (-)-2.citrato; ponto de fusão 128-130°C; $[\alpha]_D - 8,2$ ($c = 1$, H_2O).

Lisboa, 22 MAR. 2001

Por LABORATORIOS DEL DR. ESTEVE, S.A.



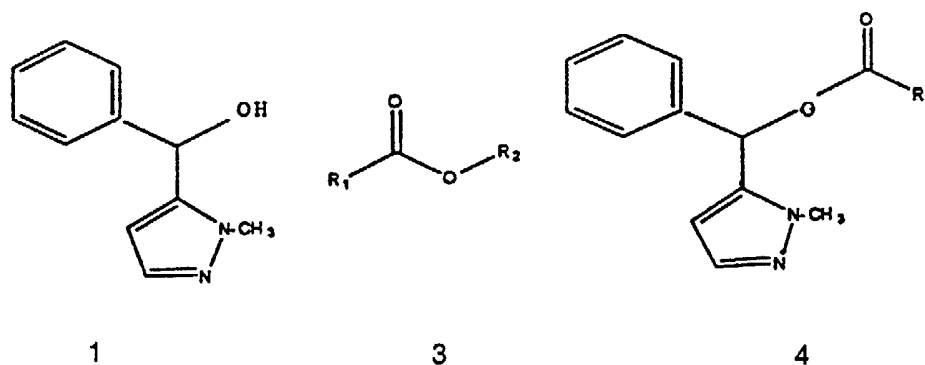
Eng. MANUEL ANTÓNIO ESTEVE

Agente Oficial de Patentes e Marcas

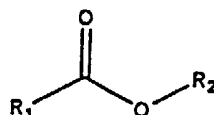
Associação de Especialistas, Lda - 1000 LISBOA

REIVINDICAÇÕES

1. Processo para preparar, de forma predominante, o enantiómero (R)-(+)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, (R)-(+)-1, por separação da mistura racémica ($\pm$)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, de fórmula 1, caracterizado por um processo sequencial que compreende a utilização de uma lipase proveniente de um microrganismo numa reacção de transesterificação entre a mistura racémica de fórmula 1 e um éster de fórmula 3, na qual R_1 representa um radical metilo ou etilo e R_2 representa um radical vinilo ou isopropenilo, assim como a hidrólise do éster formado, (S)-(-)-5-(fenil)alquilcarboniloximetil-1-metil-1H-pirazole, de fórmula (S)-(-)-4, na qual R_1 representa um radical metilo ou etilo.



2. Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pela utilização de uma lipase proveniente de um microrganismo como catalisador numa reacção de transesterificação entre um éster de fórmula 3, na qual R_1 representa um radical metilo ou etilo e R_2 representa um radical vinilo ou isopropenilo, e o enantiómero (S)-(-)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, (S)-(-)-1, o que dá lugar à formação de (S)-(-)-5-(fenil)alquilcarboniloximetil-1-metil-1H-pirazole, de fórmula (S)-(-)-4, na qual R_1 representa um radical metilo ou etilo, recuperando-se o enantiómero (R)-(+)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, (R)-(+)-1, sem reagir.



3

1

3. Processo de acordo com uma das reivindicações 1 e 2, caracterizado pela utilização de acetato de vinilo, de fórmula 3, na qual R_1 representa um radical metilo e R_2 representa um radical vinilo, como reagente e como solvente na reacção de transesterificação.

4. Processo de acordo com uma das reivindicações 1, 2 e 3, caracterizado pela utilização de um solvente pouco polar, como por exemplo o ciclohexano, para cristalizar o enantiómero (R)-(+)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, (R)-(+)-1, a partir da solução que contém, adicionalmente, o éster (S)-(-)-5-(fenil)metilcarboniloximetil-1-metil-1H-pirazole, de fórmula (S)-(-)-4, na qual R_1 representa um radical metilo.

5. Processo de acordo com uma das reivindicações 1, 2 e 3, caracterizado por se efectuar uma cromatografia em coluna de sílica-gel para separar o carbinol (R)-(+)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, (R)-(+)-1, do éster (S)-(-)-5-(fenil)metilcarboniloximetil-1-metil-1H-pirazole, de fórmula (S)-(-)-4, na qual R_1 representa um radical metilo.

6. Processo de acordo com uma das reivindicações 1 e 2, caracterizado por se efectuar a hidrólise, em meio ácido, do éster (S)-(-)-5-(fenil)alquilcarboniloximetil-1-metil-1H-pirazole, de fórmula (S)-(-)-4, na qual R_1 representa um radical metilo ou etilo, para se obter a mistura racémica ($\pm$)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, de fórmula 1, que pelo seu lado pode ser submetida de novo a um processo de separação, de acordo com as reivindicações 1 e 2, repetindo-se o ciclo tantas vezes quantas se mostre necessário.

7. Processo de acordo com uma das reivindicações 1 e 2, caracterizado por se efectuar a hidrólise com retenção da configuração, em meio básico, do éster (S)-(-)-5-(fenil)alquilcarboniloximetil-1-metil-1H-pirazole, de fórmula (S)-(-)-4, na qual R_1 representa um radical metilo ou etilo, para se obter o (S)-(-)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, de fórmula (S)-1.

Lisboa, 22 MAR. 2001

Por LABORATORIOS DEL DR. Esteve, S.A.



Agente Industrial Proprietário

Av. da Liberdade, 3, P. 1.º 1550-014 Lisboa

RESUMO

PROCESSO DE SEPARAÇÃO DE CARBINÓIS

A presente invenção está relacionada com um processo para preparar, de forma predominante, o enantiómero (R)-(+)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, (R)-(+)-1, por separação da mistura racémica ($\pm$)-5-(fenil)hidroximetil-1-metil-1H-pirazole, de fórmula (1), caracterizado por um processo sequencial que compreende a utilização de uma lipase, ou de uma matéria derivada desta possuindo actividade enzimática, numa reacção de transesterificação, assim como a hidrólise do éster formado, (S)-(-)-5-(fenil)alquilcarboniloximetil-1-metil-1H-pirazole, de fórmula (S)-(-)-4, na qual R₁ representa um radical metilo ou etilo.