

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

②② Date de dépôt : 22.09.10.

③③ Priorité :

⑦① Demandeur(s) : PIERRE FABRE MEDICAMENT —
FR.

④③ Date de mise à la disposition du public de la
demande : 23.03.12 Bulletin 12/12.

⑤⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du
présent fascicule*

⑥⑥ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦② Inventeur(s) : AUTRET JEAN-MARIE, HELLIER
PAUL, DESPENNES LAURENE, ELGUÉ SEBASTIEN
et GOURDON CHRISTOPHE.

⑦③ Titulaire(s) : PIERRE FABRE MEDICAMENT.

⑦④ Mandataire(s) : CABINET REGIMBEAU.

⑤④ PROCÉDE DE RACEMISATION ET D'ACÉTYLATION DE LA LEUCINE.

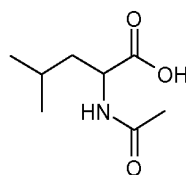
⑤⑦ La présente invention concerne un procédé de prépa-
ration d'un mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et en particu-
lier d'un mélange racémique, comprenant la réaction de
racémisation d'un sel d'addition e base de la N-acétyl-L-leu-
cine ou de la N-acétyl-D-leucine en présence d'anhydride
acétique.

La présente invention concerne également un procédé
de préparation de N-acétyl-leucine comprenant la réaction
d'acétylation en flux continu d'un sel d'addition de base de
la leucine en présence d'anhydride acétique.



La présente invention concerne un procédé de racémisation et/ou
 5 d'acétylation en vue de préparer de la N-acétyl-leucine, de préférence sous forme racémique.

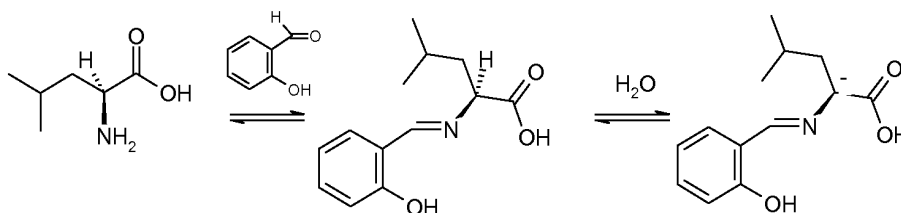
La N-acétyl-D,L-leucine est le principe actif du Tanganil® qui permet de
 traiter les crises de vertige.



10

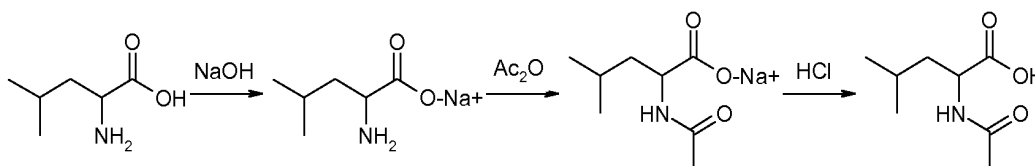
N-Acétyl-D,L-leucine

Contrairement à la majorité des synthèses chimiques de principes actifs où il
 convient de séparer les énantiomères et/ou de conserver les informations
 stéréosélectives lors des étapes de synthèse, la synthèse de la N-acétyl-D,L-leucine
 15 est réalisée à partir de la L-leucine et implique donc une étape de racémisation. Cette
 racémisation s'effectue avant l'étape d'acétylation, en passant par l'intermédiaire
 d'une base de Schiff formée *in situ* avec l'aldéhyde salicylique (Yamada **et al**, *J.*
Org. Chem., 1983, **48**, 843-846).

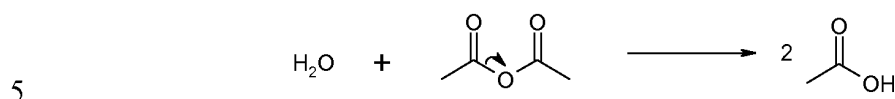


20

La leucine racémisée et isolée est ensuite dissoute dans de la soude afin
 d'obtenir le leucinate de sodium auquel va être ajouté de l'anhydride acétique.



Deux réactions compétitives sont alors mises en jeu : l'acétylation de la leucine, réaction principale, où l'anhydride acétique réagit avec la fonction amine du leucinate de sodium pour donner le N-acétylleucinate et l'hydrolyse de l'anhydride acétique en acide acétique, réaction secondaire décrite ci-dessous.



Cette synthèse présente un rendement molaire de 70%. Les étapes limitantes sont essentiellement la réaction secondaire d'hydrolyse de l'anhydride acétique et l'étape d'isolement de la leucine racémisée avant la réaction d'acétylation. En effet, à l'échelle industrielle, les quantités de produits mises en jeux pour les isollements se
10 révèlent être très contraignantes.

Il existe donc un réel besoin de développer un nouveau procédé de préparation de la N-acétyl-D,L-leucine qui soit plus économique.

Les inventeurs ont ainsi découvert que l'étape de racémisation pouvait être
15 réalisée après l'étape d'acétylation de la L-leucine permettant d'éviter une étape d'isolement du produit intermédiaire et que ce procédé pouvait être réalisé en flux continu. Du Vigneaud & Meyer (J. Biol. Chem., 1932, 98, 295-308) avaient déjà montré qu'il était possible de racémiser différents acides aminés acétylés en présence d'anhydride acétique. Toutefois, aucun exemple n'avait été réalisé avec l'acétyl-
20 leucine. En essayant de reproduire ce procédé avec l'acétyl-leucine, les inventeurs ont ainsi constaté que cette réaction de racémisation ne donnait pas de résultats satisfaisant avec l'acétyl-leucine du fait d'une réaction compétitive d'hydrolyse de l'anhydride acétique utilisé. Les inventeurs ont alors découvert de manière surprenante que la réaction de racémisation de la N-acétyl-L-leucine pouvait être
25 améliorée en la réalisant en flux continu. Il semble en effet que la réalisation de ce procédé en flux continu permette de mieux maîtriser le mélange des réactifs et donc de mieux contrôler la réaction.

La présente invention concerne donc un procédé de racémisation de la N-acétyl-L-leucine ou de la N-acétyl-D-leucine, ainsi qu'un procédé d'acétylation de la leucine, sous forme d'un énantiomère pur (L ou D) ou sous forme d'un mélange d'énantiomères en toutes proportions, et notamment sous forme racémique, en flux continu.

Les stéréoisomères ou isomères optiques qui sont des images dans un miroir l'un de l'autre, mais non superposables, sont désignés par « énantiomères ».

Un mélange contenant des quantités égales de deux formes énantiomères individuelles de chiralité opposée est désigné par « mélange racémique ».

10

La présente invention a donc pour premier objet un procédé de préparation d'un mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et en particulier d'un mélange racémique, comprenant les étapes successives suivantes :

- (a1) réaction de racémisation en flux continu d'un sel d'addition de base de la N-acétyl-L-leucine ou de la N-acétyl-D-leucine en présence d'anhydride acétique pour donner un sel d'addition de base d'un mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et en particulier d'un mélange racémique,
- (a2) traitement en milieu acide du sel d'addition de base du mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et en particulier d'un mélange racémique, obtenu à l'étape (a1) précédente, pour donner un mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et en particulier un mélange racémique, et
- (a3) séparation du milieu réactionnel du mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et en particulier d'un mélange racémique, obtenu à l'étape (a2) précédente.

Par « mélange de N-acétyl-D,L-leucine », on entend, au sens de la présente invention, un mélange des deux énantiomères N-acétyl-L-leucine et N-acétyl-D-leucine, en toutes proportions, chaque énantiomères étant notamment présent à hauteur de 20 à 80%, en particulier 30 à 70%, plus particulièrement 40 à 60%, et notamment environ 50% du mélange. Il s'agira plus particulièrement d'un mélange racémique.

30

Par « N-acétyl-L-leucine » ou « N-acétyl-D-leucine », on entend, au sens de la présente invention, de la N-acétyl-L-leucine ou de la N-acétyl-D-leucine, respectivement, ayant un excès énantiomérique supérieur à 95%, de préférence supérieur à 99%, et notamment supérieur à 99,9%.

5 Par « excès énantiomérique », on entend, au sens de la présente invention, le pourcentage molaire de l'énantiomère majoritaire moins le pourcentage molaire de l'énantiomère minoritaire.

Par « sel d'addition de base », on entend, au sens de la présente invention, un sel formé lorsqu'un proton acide présent dans le composé parent est soit remplacé
10 par un ion métallique, par exemple un ion de métal alcalin, un ion de métal alcalino-terreux ou un ion d'aluminium ; soit coordonné avec une base organique ou inorganique. De préférence, il s'agira d'un sel formé par remplacement d'un proton par un métal alcalin (par ex. Na, K ou Li) ou alcalino-terreux (par ex. Ca ou Mg), et en particulier par Na, K ou Ca. Un tel sel pourra être obtenu par réaction du composé
15 parent avec un hydroxyde de métal alcalin ou alcalino-terreux tel que l'hydroxyde de sodium, de potassium ou de calcium.

Etape (a1) :

De préférence, cette étape sera réalisée en milieu aqueux, c'est-à-dire en
20 utilisant l'eau comme solvant.

Le sel d'addition de base de la N-acétyl-L-leucine ou de la N-acétyl-D-leucine sera un sel formé par remplacement du proton de la fonction COOH par un métal alcalin (par ex. Na, K ou Li) ou alcalino-terreux (par ex. Ca ou Mg), et en particulier par Na, K ou Ca. Un tel sel pourra être obtenu par réaction de la N-acétyl-
25 L-leucine ou de la N-acétyl-D-leucine avec un hydroxyde de métal alcalin ou alcalino-terreux tel que l'hydroxyde de sodium, de potassium ou de calcium.

De préférence, la réaction sera effectuée à partir d'un sel d'addition de base de la N-acétyl-L-leucine.

La réaction de racémisation pourra être réalisée plus particulièrement en
30 présence de 2 à 5, notamment de 2,5 à 3,5 équivalents molaires d'anhydride acétique par rapport au sel d'addition de base de la N-acétyl-L-leucine ou de la N-acétyl-D-

leucine, c'est-à-dire que l'on utilise 2 à 5, notamment 2,5 à 3,5 moles d'anhydride acétique pour chaque mole de sel d'addition de base de la N-acétyl-L-leucine ou de la N-acétyl-D-leucine utilisée (cette définition des équivalents molaires est valable dans tout le texte, quels que soient les composés concernés).

5 L'anhydride acétique pourra être utilisé pur ou sous forme d'une solution aqueuse.

Le sel d'addition de base de la N-acétyl-L-leucine ou de la N-acétyl-D-leucine sera plus particulièrement utilisé sous forme d'une solution aqueuse.

La réaction de racémisation sera plus particulièrement réalisée à une
10 température de 50 à 150°C, notamment de 70 à 110°C, plus particulièrement à environ 90°C.

La réaction de racémisation est réalisée en flux continu, c'est-à-dire dans un réacteur à flux continu qui pourra être un microréacteur ou un échangeur à plaques.

Le réacteur à flux continu pourra comprendre deux alimentations, afin
15 notamment de permettre d'introduire dans le réacteur d'une part une solution aqueuse du sel d'addition de base de la N-acétyl-L-leucine ou de la N-acétyl-D-leucine et d'autre part l'anhydride acétique sous forme pure ou éventuellement sous forme d'une solution aqueuse.

Le temps de résidence dans le réacteur à flux continu pourra être compris
20 entre 30 secondes et 30 minutes.

Etape (a2) :

Le traitement acide pourra être réalisé par ajout au milieu réactionnel d'un acide tel que l'acide chlorhydrique, notamment en solution dans l'eau.

25 Ce traitement aura plus particulièrement lieu à la sortie du réacteur.

Etape (a3) :

Le mélange de N-acétyl-D,L-leucine ainsi obtenu pourra être séparé du milieu réactionnel par des méthodes bien connues de l'homme du métier, comme par
30 exemple par extraction, évaporation du solvant ou encore par précipitation et filtration.

Plus particulièrement, le mélange de N-acétyl-D,L-leucine obtenu précipite lors du traitement acide de l'étape (b2) précédente. Il est donc récupéré par simple filtration du précipité.

Il pourra ensuite être purifié si nécessaire par des techniques bien connues de l'homme du métier, et notamment par recristallisation, par chromatographie sur colonne sur gel de silice ou encore par chromatographie liquide haute performance (HPLC), et plus particulièrement par recristallisation.

Le sel d'addition de base de la N-acétyl-L-leucine ou de la N-acétyl-D-leucine peut être préparé à partir d'un sel d'addition de base de la L-leucine ou de la D-leucine respectivement, notamment par une réaction d'acétylation en présence d'anhydride acétique.

Dans ce cas, le procédé comprendra plus particulièrement les étapes successives suivantes :

- (a0) réaction d'acétylation d'un sel d'addition de base de la L-leucine ou de la D-leucine en présence d'anhydride acétique pour donner un sel d'addition de base de la N-acétyl-L-leucine ou de la N-acétyl-D-leucine, respectivement,
- (a1) réaction de racémisation en flux continu d'un sel d'addition de base de la N-acétyl-L-leucine ou de la N-acétyl-D-leucine obtenu à l'étape (a0) précédente en présence d'anhydride acétique pour donner un sel d'addition de base d'un mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et en particulier d'un mélange racémique,
- (a2) traitement en milieu acide du sel d'addition de base d'un mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et en particulier d'un mélange racémique, obtenu à l'étape (a1) précédente, pour donner un mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et en particulier un mélange racémique, et
- (a3) séparation du milieu réactionnel du mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et en particulier d'un mélange racémique, obtenu à l'étape (a2) précédente.

Par « L-leucine » ou « D-leucine », on entend, au sens de la présente invention, de la L-leucine ou de la D-leucine, respectivement, ayant un excès énantiomérique supérieur à 95%, de préférence supérieur à 99%, et notamment supérieur à 99,9%.

Etape (a0) :

De préférence, cette étape sera réalisée en milieux aqueux, c'est-à-dire en présence d'eau comme solvant.

Le sel d'addition de base de la L-leucine ou de la D-leucine sera un sel formé
5 par remplacement du proton de la fonction COOH par un métal alcalin (par ex. Na, K ou Li) ou alcalino-terreux (par ex. Ca ou Mg), et en particulier par Na, K ou Ca. Un tel sel pourra être obtenu par réaction de la L-leucine ou de la D-leucine avec un hydroxyde de métal alcalin ou alcalino-terreux tel que l'hydroxyde de sodium, de potassium ou de calcium.

10 De préférence, la réaction sera réalisée à partir d'un sel d'addition de base de la L-leucine pour donner un sel d'addition de base de la N-acétyl-L-leucine.

La réaction d'acétylation sera notamment réalisée en présence de 0,9 à 2,5, notamment 1,2 à 2, plus particulièrement 1,3 à 1,6 équivalents molaires d'anhydride acétique par rapport au sel d'addition de base de la L-leucine ou de la D-leucine.

15 L'anhydride acétique pourra être utilisé pur ou sous forme d'une solution aqueuse.

Le sel d'addition de base de la L-leucine ou de la D-leucine sera plus particulièrement utilisé sous forme d'une solution aqueuse.

La réaction d'acétylation sera plus particulièrement réalisée à une température
20 de 5 à 100°C, notamment de 25 à 50°C, et en particulier à température ambiante.

La réaction d'acétylation pourra être réalisée en particulier en flux continu, c'est-à-dire dans un réacteur à flux continu qui pourra être un microréacteur ou un échangeur à plaques.

Le réacteur à flux continu pourra comprendre deux alimentations, afin
25 notamment de permettre d'introduire dans le réacteur d'une part une solution aqueuse d'un sel d'addition de base de la L-leucine ou de la D-leucine et d'autre part l'anhydride acétique sous forme pure ou éventuellement sous forme d'une solution aqueuse.

Le temps de résidence dans le réacteur à flux continu pourra être compris
30 entre 30 secondes et 30 minutes.

Ainsi, les étapes d'acétylation et de racémisation pourront être réalisées dans un réacteur à flux continu à 2 étages (c'est-à-dire comportant deux zones de réaction successives), l'étape d'acétylation étant réalisée dans le premier étage tandis que l'étape de racémisation est réalisée dans le second étage.

- 5 Un tel réacteur pourra alors comprendre trois alimentations :
- une alimentation en entrée de premier étage pour introduire dans le premier étage du réacteur une solution aqueuse d'un sel d'addition de base de la L-leucine ou de la D-leucine,
 - une alimentation en entrée de premier étage pour introduire dans le premier
10 étage du réacteur l'anhydride acétique sous forme pure ou éventuellement de solution aqueuse, notamment dans une quantité suffisante pour réaliser la réaction d'acétylation, et
 - une alimentation en entrée de second étage pour introduire dans le second étage du réacteur l'anhydride acétique sous forme pure ou éventuellement de solution
15 aqueuse, notamment dans une quantité suffisante pour réaliser la réaction de racémisation,
- la solution obtenue à la fin du premier étage et contenant le sel d'addition de base de la N-acétyl-L-leucine ou de la N-acétyl-D-leucine étant introduite directement dans le second étage pour effectuer l'étape de racémisation.

20

La présente invention a pour second objet un procédé de préparation de N-acétyl-leucine comprenant les étapes successives suivantes :

- (b1) réaction d'acétylation en flux continu d'un sel d'addition de base de la leucine
25 en présence d'anhydride acétique pour donner un sel d'addition de base de la N-acétyl-leucine,
- (b2) traitement en milieu acide du sel d'addition de base de la N-acétyl-leucine obtenu à l'étape (b1) précédente, pour donner de la N-acétyl-leucine, et
- (b3) séparation du milieu réactionnel de la N-acétyl-leucine obtenu à l'étape (b2)
30 précédente.

Par « N-acétyl-leucine », on entend, au sens de la présente invention, la N-acétyl-L-leucine, la N-acétyl-D-leucine, ou un mélange de N-acétyl-D,L-leucine en toutes proportions, notamment un mélange racémique. Il s'agira plus particulièrement de la N-acétyl-L-leucine ou d'un mélange racémique de N-acétyl-D,L-leucine. Dans ce cas, la leucine utilisée à l'étape (b1) sera la L-leucine ou un mélange racémique de D,L-leucine.

Par « leucine », on entend, au sens de la présente invention, la L-leucine, la D-leucine, ou un mélange de D,L-leucine en toutes proportions, notamment un mélange racémique. Il s'agira plus particulièrement de la L-leucine ou d'un mélange racémique de D,L-leucine.

Par « mélange de D,L-leucine », on entend, au sens de la présente invention, un mélange des deux énantiomères L-leucine et D-leucine, en toutes proportions, chaque énantiomère étant notamment présent à hauteur de 20 à 80%, en particulier 30 à 70%, plus particulièrement 40 à 60%, et notamment environ 50% du mélange. Il s'agira plus particulièrement d'un mélange racémique.

Etape (b1) :

De préférence, cette étape sera réalisée en milieu aqueux, c'est-à-dire en utilisant l'eau comme solvant.

Le sel d'addition de base de la leucine sera plus particulièrement un sel formé par remplacement du proton de la fonction COOH de la leucine par un métal alcalin (par ex. Na, K ou Li) ou alcalino-terreux (par ex. Ca ou Mg), et en particulier par Na, K ou Ca. Un tel sel pourra être obtenu par réaction de la leucine avec un hydroxyde de métal alcalin ou alcalino-terreux tel que l'hydroxyde de sodium, de potassium ou de calcium.

La réaction d'acétylation sera notamment réalisée en présence de 0,9 à 2,5, notamment 1,2 à 2, plus particulièrement 1,3 à 1,6 équivalents molaires d'anhydride acétique par rapport au sel d'addition de base de la leucine.

La réaction d'acétylation sera plus particulièrement réalisée à une température de 5 à 100°C, notamment de 25 à 50°C, et en particulier à température ambiante.

La réaction d'acétylation est réalisée en flux continu, c'est-à-dire dans un réacteur à flux continu qui pourra être un microréacteur ou un échangeur à plaques.

Le réacteur à flux continu pourra comprendre deux alimentations, afin notamment de permettre d'introduire dans le réacteur d'une part une solution aqueuse de sel d'addition de base de la leucine et d'autre part l'anhydride acétique
5 sous forme pure ou éventuellement sous forme d'une solution aqueuse.

Le temps de résidence dans le réacteur à flux continu pourra être compris entre 30 secondes et 30 minutes.

La leucine utilisée pourra être la L-leucine permettant de préparer la N-acétyl-
10 L-leucine.

La leucine utilisée pourra être un mélange de D,L-leucine, et notamment un mélange racémique, permettant de préparer un mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et notamment un mélange racémique.

15 Etape (b2) :

Le traitement acide pourra être réalisé par ajout au milieu réactionnel d'un acide tel que l'acide chlorhydrique, notamment en solution dans l'eau.

Dans le cas où l'étape (b1) est réalisée dans un réacteur à flux continu, ce traitement aura lieu à la sortie du réacteur.

20

Etape (b3) :

La N-acétyl-leucine ainsi obtenue pourra être séparée du milieu réactionnel par des méthodes bien connues de l'homme du métier, comme par exemple par extraction, évaporation du solvant ou encore par précipitation et filtration.

25 Plus particulièrement, la N-acétyl-leucine obtenue précipite lors du traitement acide de l'étape (b2) précédente. Elle est donc récupérée par simple filtration du précipité.

Elle pourra ensuite être purifiée si nécessaire par des techniques bien connues de l'homme du métier, et notamment par recristallisation, par chromatographie sur
30 colonne sur gel de silice ou encore par chromatographie liquide haute performance (HPLC), et plus particulièrement par recristallisation.

Le procédé pourra comprendre une étape supplémentaire de racémisation, après l'étape d'acétylation (b1) et avant le traitement acide (b2), afin d'obtenir un mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et notamment un mélange racémique. Cela concerne plus particulièrement les cas où la leucine utilisée est la L-leucine ou la D-leucine.

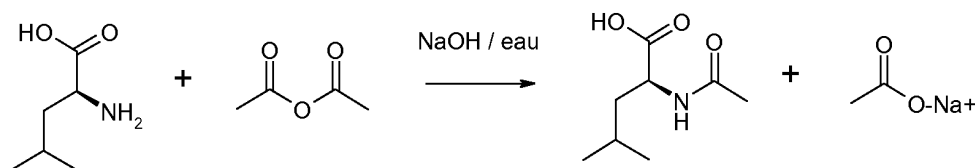
Cette étape supplémentaire pourra être réalisée dans les conditions décrites précédemment, dans le premier objet de la présente invention.

La présente invention sera mieux comprise à la lumière des exemples non limitatifs qui suivent.

10

EXEMPLES

A. Acétylation de la L-Leucine en Flux Continu



15 A.1. Etude du ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine

L'objectif de cette étude est de définir le ratio molaire nécessaire d'anhydride acétique pour que la réaction d'acétylation avec l'anhydride acétique soit totale et ne soit pas défavoriser par la compétition avec la réaction d'hydrolyse d'anhydride acétique. Lors de cette étude, le temps de séjour dans le réacteur/échangeur (1 plaque procédé) a été fixé à 9 secondes, pour une température du milieu réactionnel comprise entre 25 et 30°C.

La gamme de ratio étudiée est comprise entre 0,9 et 2,0 équivalents molaires. L'optimum est obtenu pour un ratio compris entre 1,20 et 2,00, plus particulièrement entre 1,30 et 1,60. En dessous de ce ratio, la réaction d'acétylation est défavorisée par rapport à la réaction d'hydrolyse acétique. Au-delà, la chute du pH (acide au lieu de base) défavorise également la réaction d'acétylation.

25

EXEMPLES 1-10 :

Une solution de L-leucinate de sodium, pour passage en réacteur en flux continu, est préparée de la manière suivante : 700 g de L-leucine sont dissous dans une solution de 576 g d'hydroxyde de sodium et 3,5 litres d'eau déminéralisée. Cette solution
5 constitue le fluide principal procédé. La réaction entre cette solution et l'anhydride acétique est réalisée en flux continu dans un réacteur Boostec®, fabriqué en carbure de silicium. Le réacteur/échangeur est configuré avec une plaque procédé de type injection comprise entre deux plaques utilité. Le volume de la plaque procédé est de 10 mL. La température dans le réacteur est maintenue par la circulation d'un fluide
10 cryoporteur chauffé par un bain thermostaté.

La transformation de la L-leucine en N-acétyl-L-leucine est suivie en ligne par spectroscopie Raman quantitative. Cette méthode d'analyse est calibrée au préalable avec des solutions de concentration connue préparées avec de la L-leucine et de la N-acétyl-L-leucine pures.

15

Exemple 1 :

La température du bain thermostaté est fixée à 25°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits respectifs fixés à 4,06 kg.h⁻¹ et 0,42 kg.h⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio
20 molaire d'anhydride acétique sur leucine de 0,91 équivalents. Le débit total est donc de 4,48 kg.h⁻¹, ce qui correspond à un temps de séjour (équivalent au temps de réaction) de 8,7 s. Le rendement en acétyl-L-leucinate déterminé par spectroscopie Raman en ligne en sortie du réacteur est de 40%.

Exemple 2 :

La température du bain thermostaté est fixée à 25°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits respectifs fixés à 3,95 kg.h⁻¹ et 0,45 kg.h⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio
25 molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,01 équivalents. Le débit total est donc de 4,40 kg.h⁻¹, ce qui correspond à un temps de séjour de 8,9 s. Le rendement en
30

acétyl-L-leucinate déterminé par spectroscopie Raman en ligne en sortie du réacteur est de 52 %.

Exemple 3 :

5 La température du bain thermostaté est fixée à 25°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits respectifs fixés à 3,89 kg.h⁻¹ et 0,52 kg.h⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,18 équivalents. Le débit total est donc de 4,41 kg.h⁻¹, ce qui correspond à un temps de séjour de 8,9 s. Le rendement en
10 acétyl-L-leucinate déterminé par spectroscopie Raman en ligne en sortie du réacteur est de 57 %.

Exemple 4 :

La température du bain thermostaté est fixée à 25°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits
15 respectifs fixés à 3,82 kg.h⁻¹ et 0,57 kg.h⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,32 équivalents. Le débit total est donc de 4,39 kg.h⁻¹, ce qui correspond à un temps de séjour de 8,9 s. Le rendement en acétyl-L-leucinate déterminé par spectroscopie Raman en ligne en sortie du réacteur
20 est de 83 %.

Exemple 5 :

La température du bain thermostaté est fixée à 25°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits
25 respectifs fixés à 3,64 kg.h⁻¹ et 0,55 kg.h⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,34 équivalents. Le débit total est donc de 4,19 kg.h⁻¹, ce qui correspond à un temps de séjour de 9,4 s. Le rendement en acétyl-L-leucinate déterminé par spectroscopie Raman en ligne en sortie du réacteur est de 98 %.

Exemple 6 :

La température du bain thermostaté est fixée à 25°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits respectifs fixés à 3,66 kg.h⁻¹ et 0,62 kg.h⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,50 équivalents. Le débit total est donc de 4,28 kg.h⁻¹, ce qui correspond à un temps de séjour de 9,2 s. Le rendement en acétyl-L-leucinate déterminé par spectroscopie Raman en ligne en sortie du réacteur est de 96 %.

Exemple 7 :

La température du bain thermostaté est fixée à 25°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits respectifs fixés à 3,67 kg.h⁻¹ et 0,64 kg.h⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,54 équivalents. Le débit total est donc de 4,31 kg.h⁻¹, ce qui correspond à un temps de séjour de 9,1 s. Le rendement en acétyl-L-leucinate déterminé par spectroscopie Raman en ligne en sortie du réacteur est de 100 %.

Exemple 8 :

La température du bain thermostaté est fixée à 25°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits respectifs fixés à 3,63 kg.h⁻¹ et 0,73 kg.h⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,78 équivalents. Le débit total est donc de 4,36 kg.h⁻¹, ce qui correspond à un temps de séjour de 9,0 s. Le rendement en acétyl-L-leucinate déterminé par spectroscopie Raman en ligne en sortie du réacteur est de 90 %.

Exemple 9 :

La température du bain thermostaté est fixée à 25°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits respectifs fixés à 3,70 kg.h⁻¹ et 0,78 kg.h⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio

molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,86 équivalents. Le débit total est donc de 4,48 kg.h⁻¹, ce qui correspond à un temps de séjour de 8,75 s. Le rendement en acétyl-L-leucinate déterminé par spectroscopie Raman en ligne en sortie du réacteur est de 92 %.

5

Exemple 10 :

La température du bain thermostaté est fixée à 25°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits respectifs fixés à 3,51 kg.h⁻¹ et 0,79 kg.h⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,99 équivalents. Le débit total est donc de 4,30 kg.h⁻¹, ce qui correspond à un temps de séjour de 9,11 s. Le rendement en acétyl-L-leucinate déterminé par spectroscopie Raman en ligne en sortie du réacteur est de 83 %.

15 **A.2. Etude du ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine (2)**

Une seconde étude complémentaire à la précédente (voir paragraphe A.1.) a été réalisée avec un réacteur en flux continu plus petit que celui utilisé pour l'étude précédente. Les essais ont été réalisés à 50°C au lieu de 25°C comme dans l'étude précédente. Ces résultats confirment les tendances de celles obtenus lors de la première étude.

Les rendements ont été obtenus de façon différente : au lieu d'effectuer des analyses en ligne par spectroscopie Raman le milieu réactionnel a été acidifié pour précipiter l'acétyl-L-leucine ainsi formé.

25

EXEMPLES 11-14 :

Une solution de L-leucinate de sodium, pour passage en réacteur en flux continu, est préparée de la manière suivante : 100 g de L-leucine sont dissous dans une solution de 82,4 g d'hydroxyde de sodium et 500 mL d'eau déminéralisée. Cette solution constitue le fluide principal procédé. La réaction entre cette solution et l'anhydride

30

acétique est réalisée en flux continu dans le réacteur composé d'une plaque de mélange en verre borosilicate de la marque Sigma-Aldrich® avec un volume réactionnel de 0,66 mL connecté à un tuyau en PTFE (polytétrafluoroéthylène) (diamètre interne = 1mm). La longueur de ce tuyau peut être modifiée pour pouvoir
5 changer le temps de séjour (équivalent au temps de réaction). Le microréacteur et le tuyau en PTFE sont placés dans un bain thermostaté pour réguler la température.

Pour chaque essai les conditions opératoires sont fixées pour une durée fixée. Pendant cette durée, la solution sortant du bout du tuyau en PTFE est collectée. Cette
10 solution est refroidie à 8°C et la N-acétyl-L-leucine formée est précipitée par l'ajout d'une solution d'acide chlorhydrique à 25 % jusqu'à atteindre un pH de 3. La suspension est agitée durant 30 minutes puis filtrée. Le solide blanc ainsi obtenu est lavé avec de l'eau déminéralisée à 10°C, avant séchage dans une étuve à 70°C.

15 **Exemple 11 :**

La température du bain thermostaté est fixée à 50°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits respectifs fixés à 8,55 mL.min⁻¹ et 1,30 mL.min⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,30 équivalents. Le débit total est
20 donc de 9,85 mL.min⁻¹. Le temps de séjour a été fixé à 2 minutes et la durée de l'expérience à 12 minutes 40 secondes. 18,3g du produit ont été obtenus sous forme de cristaux blancs ce qui correspond à un rendement de 79%. Le produit a été caractérisé par dosage HPLC (chromatographie liquide à haute performance) en comparaison avec un témoin pur de N-acétyl-L-leucine. Le point de fusion des
25 cristaux a été déterminé par calorimétrie différentielle à balayage donnant un résultat de 183,4°C.

Exemple 12 :

La température du bain thermostaté est fixée à 50°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits
30 respectifs fixés à 8,55 mL.min⁻¹ et 1,45 mL.min⁻¹. Ces débits correspondent à un

ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,45 équivalents. Le débit total est donc de 10 mL.min⁻¹. Le temps de séjour a été fixé à 2 minutes et la durée de l'expérience à 12 minutes 40 secondes. 20,8 g du produit ont été obtenus sous forme de cristaux blancs ce qui correspond à un rendement de 89 %. Le produit a été
5 caractérisé par dosage HPLC en comparaison avec un témoin pur de N-acétyl-L-leucine. Le point de fusion des cristaux a été déterminé par calorimétrie différentielle à balayage donnant un résultat de 185,2°C.

Exemple 13 :

10 La température du bain thermostaté est fixée à 50°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits respectifs fixés à 8,55 mL.min⁻¹ et 1,45 mL.min⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,45 équivalents. Le débit total est donc de 10 mL.min⁻¹. Le temps de séjour a été fixé à 30 secondes et la durée de
15 l'expérience à 31 minutes 40 secondes. 48,6 g du produit ont été obtenus sous forme de cristaux blancs ce qui correspond à un rendement de 86%. Le produit a été caractérisé par dosage HPLC en comparaison avec un témoin pur de N-acétyl-L-leucine. Le point de fusion des cristaux a été déterminé par calorimétrie différentielle à balayage donnant un résultat de 183,5°C.

20

Exemple 14 :

La température du bain thermostaté est fixée à 50°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits respectifs fixés à 8,55 mL.min⁻¹ et 1,60 mL.min⁻¹. Ces débits correspondent à un
25 ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,60 équivalents. Le débit total est donc de 10,15 mL.min⁻¹. Le temps de séjour a été fixé à 2 minutes et la durée de l'expérience à 13 minutes 36 secondes. 21,5 g du produit ont été obtenus sous forme de cristaux blancs ce qui correspond à un rendement de 86%. Le produit a été caractérisé par dosage HPLC en comparaison avec un témoin pur de N-acétyl-L-
30 leucine. Le point de fusion des cristaux a été déterminé par calorimétrie différentielle à balayage donnant un résultat de 182,7°C.

A.3. Etude du Temps de Résidence

EXEMPLES 15-17 :

Ces essais ont été réalisés selon le même mode opératoire que les exemples 1 à 10.

- 5 Le point d'injection a été modifié ce qui permet de diminuer le volume réactionnel et donc le temps de séjour (équivalent au temps de réaction).

Exemple 15 :

- 10 La température du bain thermostaté est fixée à 25°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits respectifs fixés à 5,04 kg.h⁻¹ et 0,89 kg.h⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,56 équivalents. Le débit total est donc de 5,93 kg.h⁻¹, ce qui correspond à un temps de séjour de 8,7 s. Le rendement en acétyl-L-leucinate déterminé par spectroscopie Raman en ligne en sortie du réacteur
- 15 est de 100%.

Exemple 16 :

- 20 La température du bain thermostaté est fixée à 25°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits respectifs fixés à 6,03 kg.h⁻¹ et 0,96 kg.h⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,40 équivalents. Le débit total est donc de 7,00 kg.h⁻¹, ce qui correspond à un temps de séjour de 4,1 s. Le rendement en acétyl-L-leucinate déterminé par spectroscopie Raman en ligne en sortie du réacteur
- 25 est de 94%.

Exemple 17 :

- 30 La température du bain thermostaté est fixée à 25°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits respectifs fixés à 7,04 kg.h⁻¹ et 1,14 kg.h⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,43 équivalents. Le débit total est donc de 8,2 kg.h⁻¹, ce qui correspond à un temps de séjour de 2,5 s. Le rendement en

acétyl-L-leucinate déterminé par spectroscopie Raman en ligne en sortie du réacteur est de 96%.

Basé sur les résultats cités précédemment les paramètres des plages de
5 fonctionnement sont résumés dans le tableau suivant.

B. Racémisation de la N-Acétyl-L-Leucine en Flux Continu

EXEMPLES 18-23 :

10 Une solution de N-acétyl-L-leucine, pour passage en réacteur en flux continu, est préparée de la manière suivante : 50 g de N-acétyl-L-leucine sont dissous dans une solution de 11,6 g d'hydroxyde de sodium et 500 mL d'eau déminéralisée. Cette solution constitue le fluide principal procédé. La réaction entre cette solution et l'anhydride acétique est réalisée en flux continu dans un réacteur Série R de la
15 marque Vapourtec®. Les débits sont définis pour obtenir un temps de résidence dans le microréacteur de deux minutes et la stœchiométrie désirée par rapport à l'acétyl-L-leucine engagé. 0,5mL de la solution en sortie du réacteur est traitée avec 10mL de méthanol. La solution ainsi obtenue est analysée par HPLC chiral pour déterminer le taux de racémisation.

20

Exemple 18 :

La température du réacteur est fixée à 60°C. La solution de N-acétyl-L-leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits correspondant à un ratio molaire d'anhydride acétique sur N-acétyl-L-leucine de 3,5
25 équivalents et un temps de séjour de 2 minutes. Le taux de racémisation déterminé par HPLC chiral est de 94%.

Exemple 19 :

La température du réacteur est fixée à 90°C. La solution de N-acétyl-L-leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits
30 correspondant à un ratio molaire d'anhydride acétique sur N-acétyl-L-leucine de 2,6

équivalents et un temps de séjour de 2 minutes. Le taux de racémisation déterminé par HPLC chiral est de 100%.

Exemple 20 :

- 5 La température du réacteur est fixée à 90°C. La solution de N-acétyl-L-leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur N-acétyl-L-leucine de 2,8 équivalents et un temps de séjour de 2 minutes. Le taux de racémisation déterminé par HPLC chiral est de 99%.

10

Exemple 21 :

- La température du réacteur est fixée à 120°C. La solution de N-acétyl-L-leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur N-acétyl-L-leucine de 2,5
15 équivalents et un temps de séjour de 2 minutes. Le taux de racémisation déterminé par HPLC chiral est de 100%.

Exemple 22 :

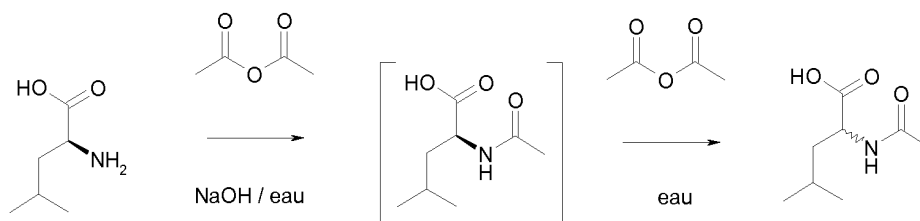
- La température du réacteur est fixée à 120°C. La solution de N-acétyl-L-leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits
20 correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur N-acétyl-L-leucine de 3,0 équivalents et un temps de séjour de 2 minutes. Le taux de racémisation déterminé par HPLC chiral est de 99%.

25 **Exemple 23 :**

- La température du réacteur est fixée à 150°C. La solution de N-acétyl-L-leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur N-acétyl-L-leucine de 2,8
30 équivalents et un temps de séjour de 2 minutes. Le taux de racémisation déterminé par HPLC chiral est de 99%.

C. Synthèse en Flux Continu de la N-Acétyl-D,L-Leucine à partir de la L-Leucine

Le fait que le même réactif, l'anhydride acétique, permet d'effectuer l'acétylation de la L-leucine et aussi la racémisation de la N-acétyl-L-leucine ainsi formée permet d'envisager la synthèse de la N-acétyl-D,L-leucine dans une seule étape. Dans ce cas le produit initial, la N-acétyl-L-leucine, ne serait pas isolé mais transformé *in situ*. Un tel procédé serait nettement avantageux par rapport au procédé actuel industriel décrit précédemment consistant en deux étapes distinctes.



10 Cette série de transformations peut être réalisé de deux façons différentes.

C.1. Synthèse de la N-Acétyl-D,L-Leucine à partir de la L-Leucine en Flux Continu dans 1 Etage

15 Il s'agit ici d'augmenter la quantité d'anhydride acétique utilisée par rapport à celle utilisé dans les exemples 1 à 17 pour permettre de réaliser dans une seule étape l'acétylation et la racémisation consécutive.

Exemple 24 :

20 Une solution de L-leucine, pour passage en réacteur en flux continu, est préparée de la manière suivante : 85 g de L-leucine sont dissous dans une solution de 64,9 g d'hydroxyde de sodium et 425 mL d'eau déminéralisée. Cette solution constitue le fluide principal procédé. La réaction entre cette solution et l'anhydride acétique est réalisée en flux continu dans un réacteur Série R da la marque Vapourtec®. La température du réacteur est fixée à 90°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits correspondant à

25

un ratio molaire d'anhydride acétique sur L-leucine de 3 équivalents et un temps de séjour de 1 minute.

La solution du milieu réactionnel sortant du réacteur est collectée pendant une durée de 4 heures 10 minutes. Cette solution est refroidie à 8°C et la N-acétyl-D,L-leucine formée est précipitée par l'ajout d'une solution d'acide chlorhydrique à 25 % jusqu'à
5 atteindre un pH de 3. La suspension est agitée durant 30 minutes et filtrée. Le solide blanc ainsi obtenu est lavé avec de l'eau déminéralisée à 10°C, avant séchage dans une étuve 70°C.

65 g du produit ont été obtenus sous forme de cristaux blancs ce qui correspond à un
10 rendement de 61%. Le produit a été caractérisé par dosage HPLC en comparaison avec un témoin pur de N-acétyl-L-leucine. Le taux de racémisation déterminé par HPLC chiral est de 97,7%.

C.2 Synthèse de la N-Acétyl-D,L-Leucine à partir de la L-Leucine en Flux 15 **Continu dans 2 Etages**

La synthèse décrite à la section C.1. n'est cependant pas celle qui est optimale. Comme démontré dans les sections précédentes, les conditions optimales pour réaliser l'acétylation ne correspondent pas aux conditions optimales pour réaliser la
20 racémisation. En conséquence, il est logique de réaliser le procédé dans un réacteur composé de 2 étages, qui permette de travailler avec des conditions différentes pour les 2 étapes.

EXEMPLES 25-27 :

25 Une solution de L-leucinate de sodium, pour passage en réacteur en flux continu, est préparée de la manière suivante : 700 g de L-leucine sont dissous dans une solution de 576 g d'hydroxyde de sodium et 3,5 litres d'eau déminéralisée. Cette solution constitue le fluide principal procédé.

La synthèse est réalisée en flux continu dans un réacteur Boostec[®], fabriqué en
30 carbure de silicium. Le réacteur/échangeur est configuré en deux zones. La première zone est constituée de deux plaques procédé de type injection avec un volume par

- plaque de 10 mL. La réaction entre cette solution et une première entrée d'anhydride acétique pour effectuer l'acétylation de la L-leucinate de sodium est réalisée dans cette zone. La température dans le réacteur est maintenue par la circulation d'un fluide cryoporteur chauffé par un bain thermostaté. La température du bain thermostaté est fixée à 30°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits respectifs fixés à 5,00 kg.h⁻¹ et 0,80 kg.h⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,45 équivalents et un temps de séjour de 13 secondes. Ces conditions ont été fixées pour les exemples 25 à 27.
- 10 La racémisation est réalisée dans une deuxième zone du réacteur constituée de trois plaques procédé de type injection avec un volume par plaque de 10 mL. La température dans cette zone du réacteur est maintenue par la circulation d'un fluide cryoporteur chauffé par un deuxième bain thermostaté. Cela permet de maintenir la température de cette zone à 75°C, température différente de celle de la zone d'acétylation. Une deuxième quantité d'anhydride acétique est introduite au début de
- 15 cette zone pour réaliser la racémisation. Une modification de ce débit d'anhydride acétique permet de définir la stœchiométrie désirée par rapport à la L-leucine engagée. Afin de quencher la solution, la solution d'acétyl-D,L-leucinate est traitée avec du méthanol (40 équivalents molaires de méthanol par rapport à la L-leucine engagée). La solution ainsi obtenue est analysée par HPLC chirale pour déterminer le
- 20 taux de racémisation.

Exemple 25 :

- Le débit de la deuxième entrée d'anhydride acétique est de 1,80 kg.h⁻¹, ce qui
- 25 correspond à un temps de séjour dans la deuxième zone du réacteur de 33 s. Ceci correspond à un ratio molaire d'anhydride acétique sur L-leucine de 3,1 équivalents. Le taux de racémisation déterminé par HPLC chirale est de 91%.

Exemple 26 :

- 30 Le débit de la deuxième entrée d'anhydride acétique est de 2,20 kg.h⁻¹, ce qui correspond à un temps de séjour dans la deuxième zone du réacteur de 31 s. Ceci

correspond à un ratio molaire d'anhydride acétique sur L-leucine de 3,8 équivalents. Le taux de racémisation déterminé par HPLC chiral est de 94%.

Exemple 27 :

- 5 Le débit de la deuxième entrée d'anhydride acétique est de 2,60 kg.h⁻¹, ce qui correspond à un temps de séjour dans la deuxième zone du réacteur de 30 s. Ceci correspond à un ratio molaire d'anhydride acétique sur L-leucine de 4,4 équivalents. Le taux de racémisation déterminé par HPLC chiral est de 97%.

10 **EXEMPLE 28 :**

Une solution de L-leucinate de sodium, pour passage en réacteur en flux continu, est préparée de la manière suivante : 50 g de L-leucine sont dissous dans une solution de 41,2 g d'hydroxyde de sodium et 250 mL d'eau déminéralisée. Cette solution constitue le fluide principal procédé.

- 15 La synthèse est réalisée en flux continu dans un réacteur Série R de la marque Vapourtec[®]. Le réacteur est configuré en deux zones. La première zone consiste d'un réacteur tubulaire en acier avec un volume de 10 mL. La réaction entre cette solution et une première entrée d'anhydride acétique pour effectuer l'acétylation du L-leucinate de sodium est réalisée dans cette zone. La température dans cette zone est
20 fixée à 50°C. La solution de leucinate de sodium et l'anhydride acétique pur sont introduits dans le réacteur à des débits respectifs fixés à 3,24 mL.min⁻¹ et 0,55 mL.min⁻¹. Ces débits correspondent à un ratio molaire d'anhydride acétique sur leucine de 1,45 équivalents et un temps de séjour de 2,7 minutes.

- La racémisation est réalisée dans une deuxième zone constituée d'un réacteur
25 tubulaire en acier avec un volume de 10 mL. La température dans cette zone est fixée à 90°C. La deuxième quantité d'anhydride acétique est introduite au début de cette zone à un débit de 0,89 mL.min⁻¹, ce qui correspond à un ratio molaire d'anhydride acétique sur L-leucine de 2,6 équivalents et un temps de séjour de 2,1 minutes.

- La solution du milieu réactionnel sortant du réacteur est collectée pendant une durée
30 de 72 minutes. Cette solution est refroidie à 8°C et la N-acétyl-L-leucine formée est précipitée par l'ajout d'une solution d'acide chlorhydrique à 25 % jusqu'à atteindre

un pH de 3. La suspension est agitée durant 30 minutes et filtrée. Le solide blanc ainsi obtenu est lavé avec de l'eau déminéralisée à 10°C, avant séchage dans une étuve 70°C.

- 23,8 g du produit ont été obtenus sous forme de cristaux blancs ce qui correspond à
5 un rendement de 54%. Le produit a été caractérisé par dosage HPLC en comparaison avec un témoin pur de N-acétyl-L-leucine. Le taux de racémisation déterminé par HPLC chiral est de 94%.

REVENDICATIONS

1. Procédé de préparation d'un mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et en particulier d'un mélange racémique, comprenant les étapes successives suivantes :
 - 5 (a1) réaction de racémisation en flux continu d'un sel d'addition de base de la N-acétyl-L-leucine ou de la N-acétyl-D-leucine en présence d'anhydride acétique pour donner un sel d'addition de base d'un mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et en particulier d'un mélange racémique,
 - (a2) traitement en milieu acide du sel d'addition de base du mélange de N-acétyl-
10 D,L-leucine, et en particulier d'un mélange racémique, obtenu à l'étape (a1) précédente, pour donner un mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et en particulier un mélange racémique, et
 - (a3) séparation du milieu réactionnel du mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et en particulier d'un mélange racémique, obtenu à l'étape (a2) précédente.
- 15 2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce que le sel d'addition de base est un sel de sodium, de potassium ou de calcium.
3. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 et 2, caractérisé en ce
20 que la réaction de racémisation est réalisée en présence de 2 à 5, notamment de 2,5 à 3,5 équivalents molaires d'anhydride acétique par rapport au sel d'addition de base de la N-acétyl-L-leucine ou de la N-acétyl-D-leucine.
4. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce
25 que la réaction de racémisation est réalisée à une température de 50 à 150°C, notamment de 70 à 110°C, plus particulièrement à environ 90°C.
5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce
30 que la réaction de racémisation est réalisée dans un microréacteur ou un échangeur à plaques.

6. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que le sel d'addition de base de la N-acétyl-L-leucine ou de la N-acétyl-D-leucine est préparé à partir d'un sel d'addition de base de la L-leucine ou de la D-leucine respectivement, par une réaction d'acétylation en présence d'anhydride acétique.
- 5
7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que la réaction d'acétylation est réalisée en présence de 0,9 à 2,5, notamment 1,2 à 2, plus particulièrement 1,3 à 1,6 équivalents molaires d'anhydride acétique par rapport au sel d'addition de base de la L-leucine ou de la D-leucine.
- 10
8. Procédé l'une quelconque des revendications 6 et 7, caractérisé en ce que la réaction d'acétylation est réalisée à une température de 5 à 100°C, notamment de 25 à 50°C.
- 15
9. Procédé l'une quelconque des revendications 6 à 8, caractérisé en ce que la réaction d'acétylation est réalisée en flux continu, notamment dans un microréacteur ou un échangeur à plaques.
- 20
10. Procédé l'une quelconque des revendications 6 à 9, caractérisé en ce que les réactions d'acétylation et de racémisation sont réalisées dans un réacteur à flux continu à deux étages, la réaction d'acétylation étant réalisée dans le premier étage et la réaction de racémisation étant réalisée dans le second étage.
- 25
11. Procédé de préparation de N-acétyl-leucine comprenant les étapes successives suivantes :
- (b1) réaction d'acétylation en flux continu d'un sel d'addition de base de la leucine en présence d'anhydride acétique pour donner un sel d'addition de base de la N-acétyl-leucine,
- (b2) traitement en milieu acide du sel d'addition de base de la N-acétyl-leucine obtenu à l'étape (b1) précédente, pour donner de la N-acétyl-leucine, et
- 30

(b3) séparation du milieu réactionnel de la N-acétyl-leucine obtenu à l'étape (b2) précédente.

12. Procédé selon la revendication 11, caractérisé en ce que le sel d'addition de
5 base est un sel de sodium, de potassium ou de calcium.

13. Procédé selon l'une quelconque des revendications 11 et 12, caractérisé en ce
que la réaction d'acétylation est réalisée en présence de 0,9 à 2,5, notamment 1,2 à 2,
plus particulièrement 1,3 à 1,6 équivalents molaires d'anhydride acétique par rapport
10 au sel d'addition de base de la leucine.

14. Procédé selon l'une quelconque des revendications 11 à 13, caractérisé en ce
que la réaction d'acétylation est réalisée à une température de 5 à 100°C, notamment
de 25 à 50°C.

15

15. Procédé selon l'une quelconque des revendications 11 à 14, caractérisé en ce
que la leucine utilisée est un mélange de D,L-leucine, et notamment un mélange
racémique.

20 16. Procédé selon l'une quelconque des revendications 11 à 14, caractérisé en ce
que la leucine utilisée est la L-leucine.

17. Procédé selon la revendication 16, caractérisé en ce qu'une étape
supplémentaire de racémisation est réalisée entre les étapes (b1) et (b2) afin d'obtenir
25 un sel d'addition de base d'un mélange de N-acétyl-D,L-leucine, et notamment d'un
mélange racémique.

18. Procédé selon la revendication 17, caractérisé en ce que l'étape de
racémisation est réalisée par un procédé selon l'une quelconque des revendications 1
30 à 4.



RAPPORT DE RECHERCHE PRÉLIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications
déposées avant le commencement de la recherche

N° d'enregistrement
national

FA 741794
FR 1057628

DOCUMENTS CONSIDÉRÉS COMME PERTINENTS		Revendication(s) concernée(s)	Classement attribué à l'invention par l'INPI
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes		
X	H. D. DEWITT ET AL: JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 73, no. 7, 19 juillet 1951 (1951-07-19), pages 3359-3360, XP55000374, ISSN: 0002-7863, DOI: 10.1021/ja01151a108	11-16	C07C227/36 C07C227/40
Y	* le document en entier *	1-18	
Y,D	DU VIGNEAUD AND CURTIS E. MEYER: "The Racemization of Amino Acids in Aqueous Solution by Acetic Anhydride", JOURNAL OF BIOLOGICAL CHEMISTRY, vol. 98, 1932, pages 295-308, XP009149260, * le document en entier *	1-18	
Y	M. BERGMANN AND L. ZERVAS: "Über katalische Racemisation von Aminosäuren und Peptiden", BIOCHEMISCHE ZEITSCHRIFT, vol. 203, 1929, pages 280-292, XP009149277, * page 281, alinéa 3 - page 282, alinéa 2 * * page 290, dernier alinéa - page 291 *	1-18	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHÉS (IPC)
			C07C
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
10 juin 2011		Bedel, Christian	
CATÉGORIE DES DOCUMENTS CITÉS X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : arrière-plan technologique O : divulgation non-écrite P : document intercalaire T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant			