

DESCRIÇÃO
DA
PATENTE DE INVENÇÃO

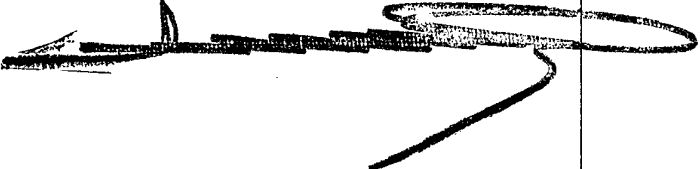
N.º 100 363

REQUERENTE: SOCIETE DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'APPLI-CATIONS SCIENTIFIQUES S.C.R.A.S., sociedade anônima francesa, industrial e comercial, com sede em 51/53 rue du Docteur Blanche, 75016 Paris, França.

EPÍGRAFE: PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE GINKGOLIDO B A PARTIR DE GINKGOLIDO C

INVENTORES: Beng-Poon Teng.

Reivindicação do direito de prioridade ao abrigo do artigo 4.º da Convenção de Paris de 20 de Março de 1883. Reino Unido em 9 de Abril de 1991 sob o nº 9107425.2.



Descrição referente à patente
de invenção de SOCIETE DE CON-
SEILS DE RECHERCHES ET D'AP-
PLICATIONS SCIENTIFIQUES S.C.
R.A.S., sociedade anônima fran-
cesa, industrial e comercial,
com sede em 51/53 rue du Doc-
teur Blanche, 75016 Paris ,
França, (inventor: Beng-Poon
Teng, residente na França) pa-
ra "PROCESSO PARA A PREPARA-
ÇÃO DE GINKGOLÍDO B A PARTIR
DE GINKGOLÍDO C

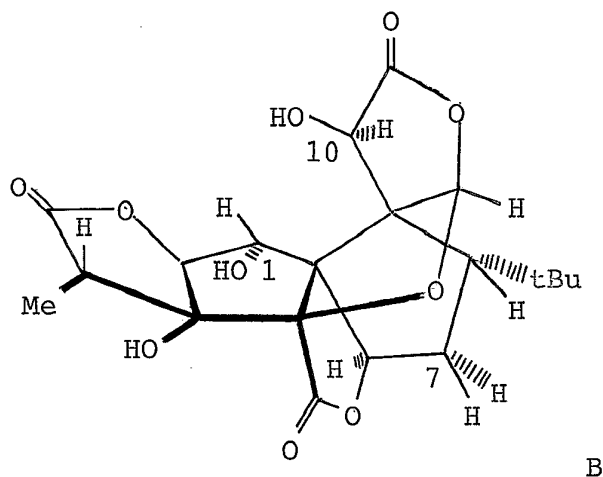
D E S C R I Ç Ã O

A presente invenção refere-se a um processo pa-
ra a preparação do ginkgolido B a partir do ginkgolido C e re-
fere-se ao ginkgolido B assim obtido.

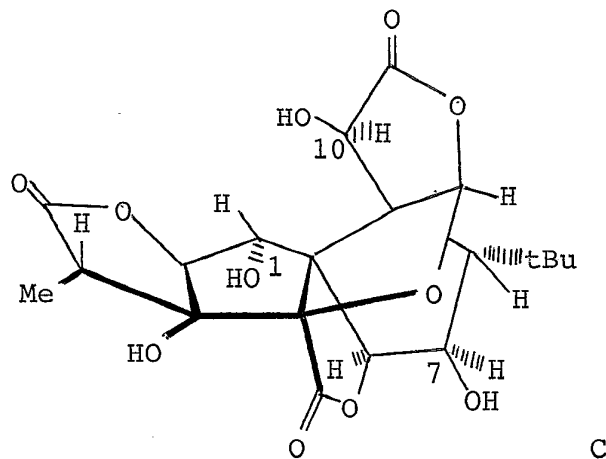
Os ginkgolidos B e C são lactonas diterpeno iso-
ladas a partir de folhas e raízes de árvore ginkgo biloba em pro-
porções aproximadamente comparáveis (essas proporções variam em
conformidade com o material e com as suas fontes e também com o
método de extracção utilizado). Descobriu-se que o Ginkgolido B
é um poderoso inibidor do factor de agregação das plaquetas FAP-
-acéter (veja-se por exemplo a patente norte-americana número
4 734 280) ao passo que o ginkgolido C é menos activo para o mes-
mo efeito. Ainda que os ginkgolidos são extraídos em proporções
aproximadamente comparáveis tornou-se interessante converter o
ginkgolido C em ginkgolido B na medida em que partindo de um
produto pouco dispendioso se dispõe de um processo de conversão

claramente mais barato do que o processo de extracção.

A presente invenção proporciona um processo para a preparação do ginkgolido B de fórmula B

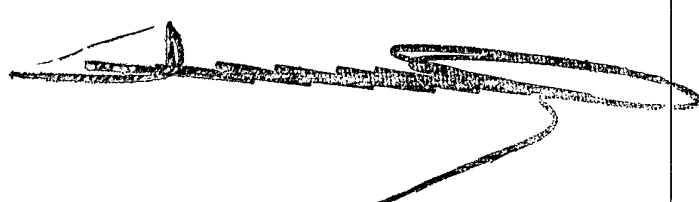


a partir do ginkgolido C de fórmula C



Caracterizando-se esse processo pela seguinte sucessão de quatro passos:

- protecção do grupo 10-hidroxi do ginkgolido C por conversão num éster alquílico, efectuando-se a reacção em dimetil-formamida a uma temperatura compreendida aproximadamente entre 15 e 50°C durante um período de tempo variável entre 4 e 10 horas;



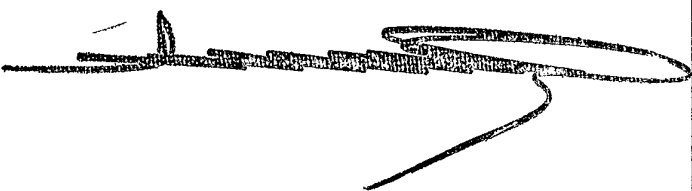
- activação do grupo 7-hidroxi do ginkgolido C resultante protegido na posição 10 por conversão num ester (R)tio-carbonílico em que o símbolo R representa um grupo fenoxi, um grupo fenoxi substituído por um ou vários átomos de halogéneo, ou o grupo imidazolilo, tratando-o com um agente de activação seleccionado entre fenil-tio-carbonatos em que o grupo fenilo é facultativamente substituído por um ou vários átomos de halogéneo e com 1,1'-tío-carbonil-di-imidazol respectivamente, efectuando-se a activação em condições alcalinas para valores de temperatura compreendidos aproximadamente entre 0 e 40°C durante um período de tempo variável entre 1 e 24 horas;

- desoxigenação do grupo activado na posição 7 do ginkgolido C activado na posição 7 e protegido na posição 10, tratando-o com hidreto de tributil-estanho ou com tris-(trimetil-silil)silano, num solvente aprótico, em presença de um gerador de radicais livres, efectuando-se a reacção a uma temperatura compreendida aproximadamente entre 70 e 110°C durante um período de tempo variável entre 15 minutos e 3 horas sob uma atmosfera inerte, e

- clivagem do grupo de protecção para proporcionar o grupo 10-hidroxi a partir do ginkgolido B protegido na posição 10 referido antes.

No primeiro passo, o grupo hidroxi em C-10 do ginkgolido C pode ser preferencialmente protegido como ester acetílico, n-butirílico ou n-valerílico e o agente de protecção para essa conversão pode ser respectivamente o anidrido acético, o anidrido n-butírico e o anidrido n-valérico. A reacção efectua-se de preferência a uma temperatura compreendida aproximadamente entre 20 e 40°C durante um período de tempo variável entre 7 e 9 horas.

O segundo passo no processo da presente invenção consiste na activação do grupo 7-hidroxi do ginkgolido C. Converte-se o referido grupo 7-hidroxi num ester (R)tio-carbonílico em que o símbolo R representa de preferência um grupo fenoxi



xi, 2,4,6-tricloro-fenoxi, pentafluoro-fenoxi ou imidazolilo, tratando-o com 1 a 3 equivalentes de um agente activador seleccionado entre fenil-cloro-tiono-formato, 2,4,6-tricloro-fenil-cloro-tiono-formato, pentafluoro-fenil-cloro-tiono-formato e 1,1'-tio-carbonil-di-imidazol respectivamente. A reacção efectua-se preferencialmente numa mistura de solventes que contenha pelo menos piridina (1 a 90% em volume) ou em acetonitrilo contendo entre 2 e 4 equivalentes de 4-(dimetil-amino)piridina.

No terceiro passo efectua-se a desoxigenação do grupo activado na posição 7 de preferência num solvente adequado seleccionado entre acetonitrilo, benzeno e tolueno ou suas misturas, em presença de um gerador de radicais livres seleccionado entre a,a'-azo-isobutironitrilo e hidroperóxido de terc.-butilo. É possível utilizar entre 2 e 4 equivalentes de hidreto de tributyl-estanho ou tris-(trimethyl-silil)silano em solventes adequados em proporções tais que o derivado seja solúvel em presença de 0,01 a 0,1 equivalentes do gerador de radicais livres. A atmosfera inerte pode ser constituída por azoto ou por argon.

No quarto passo do processo da presente invenção é possível efectuar a clivagem do grupo de protecção na posição 10 recorrendo a qualquer método convencional tal como por exemplo o tratamento com uma solução concentrada de amónia; devido à abertura dos anéis da lactona em condições alcalinas é necessário proceder seguidamente a uma acidificação para um valor próximo de pH 3 ou inferior para remoção do excesso de amónia e para conservar os anéis da lactona fechados. Em alguns casos não é necessário executar este passo de forma independente uma vez que a desejada clivagem pode ocorrer sob as condições praticadas no terceiro passo: no caso de a desoxidação ser efectuada com vestígios de 4-(dimetil-amino)piridina (DMAP), obtém-se o ginkgolido B desprotegido directamente sem necessidade de executar o passo de desprotecção.

• Os exemplos seguintes ilustram os diferentes
• passos do processo da presente invenção.
•

EXEMPLO 1:

Passo 1. Preparação do ester alquílico em C-10 do ginkgolido C

O exemplo adiante descrito permite a preparação do acetato em C-10 do ginkgolido C. Os outros esteres alquílicos podem ser obtidos nas mesmas condições.

Dissolveu-se uma quantidade de 4,40 g (10 mM) de ginkgolido C em 20 ml de dimetil-formamida (DMF) num balão de fundo redondo com a capacidade de 250 ml. Adicionou-se uma quantidade de 3,77 ml (40 mM) de anidrido acético e agitou-se a mistura durante a noite (16 horas) à temperatura ambiente. Verificou-se a eventualidade de a reacção estar completa por cromatografia em líquido de elevado rendimento (CLER). Depois adicionou-se uma quantidade de 10 ml de etanol e evaporou-se a mistura praticamente até à secagem sob pressão reduzida (<25 mmHg, <3333 Pascal) num evaporador rotativo em banho-maria à temperatura de 50°C. Removeu-se a DMF residual por adição de tolueno e efectuou-se a evaporação a uma temperatura próxima de 90°C sob pressão reduzida. Repetiu-se este procedimento várias vezes para garantir que toda a DMF tinha sido removida. Dissolveu-se em 20 ml de acetato de etiló o resíduo obtido e depois adicionou-se a solução resultante gota a gota a uma proveta contendo 100 ml de n-heptano (ou n-hexano ou éter do petróleo) sob agitação constante. O acetato precipitou sob a forma de flocos que foi possível filtrar através de um filtro de vidro sinterizado (porosidade 4) e depois procedeu-se à secagem numa estufa de vácuo para proporcionar uma quantidade de 4,30 g de produto (90%).

Em condições idênticas às que foram anteriormente descritas preparou-se também o correspondente butirato em C-10 e o correspondente valerato em C-10 mas utilizando respectivamente o anidrido n-butírico e o anidrido n-valérico em vez do anidrido acético (produção: 4,44 g de um butirato em C-10 (87%) e 4,88 g de valerato em C-10 (90%)).

EXEMPLO 2:

Passo 2: Preparação do ester fenoxi-tio-carbonílico em C-7 do acetato em C-10 do ginkgolido C em que o grupo fenoxi é facultativamente substituído por um ou vários átomos de halogêneo.

Este exemplo permite a preparação com um grupo fenoxi não substituído. As condições praticadas são as mesmas que foram utilizadas para a conversão no ester fenoxi-tio-carbonílico, sendo o grupo fenoxi substituído por um ou vários átomos de halogêneo.

Dissolveu-se uma quantidade de 482 mg (1 mM) do acetato em C-10 do ginkgolido C e 490 mg (4 mM) de 4-dimetil-amino-piridina (DMAP) quantidade de 9,6 ml de acetonitrilo. Depois adicionou-se 276,6 µl (2 mM) de fenil-cloro-tiono-carbonato e agitou-se a mistura durante 20 minutos. Verificou-se que a reacção estava completa por CLER. A seguir adicionou-se 20 ml de tolueno e filtrou-se a solução através de 10 g de gel de sílica (Merck 7734). Este procedimento permitiu remover a DMAP que se encontrava absorvida no gel de sílica. Depois efectuou-se a eluição adicionando 20 ml de uma mistura de tolueno/acetonitrilo (7/3). Evaporou-se o filtrado praticamente até à secagem e a seguir adicionou-se 40 ml de n-hexano (ou n-heptano ou éter do petróleo) para precipitar o produto. Filtrou-se o precipitado sobre um filtro de vidro sinterizado G4 e procedeu-se à secagem numa estufa de vácuo e à temperatura ambiente para proporcionar uma quantidade de 405 mg de produto (66%).

Procedeu-se à preparação dos correspondentes ésteres 2,4,6-tricloro- e pentafluoro-fenoxi-tio-carbonílicos em C-7 do acetato em C-10 do ginkgolido N nas mesmas condições anteriormente descritas mas utilizando respectivamente 2,4,6-tricloro-fenil-cloro-tiono-formato e pentafluoro-fenil-cloro-tiono-formato em vez de fenil-cloro-tiono-carbonato (Produção: 512 mg (71%) e 475 mg (67%) respectivamente).

EXEMPLO 3:

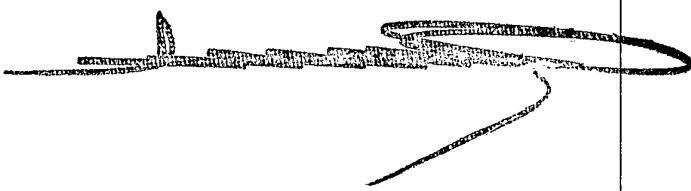
Passo 2: Preparação do éster fenoxi-tio-carbonílico em C-7 do acetato em C-10 do ginkgolido C (método alternativo)

Dissolveu-se uma quantidade de 1446 mg (3 mM) do acetato em C-10 do ginkgolido C em 6 ml de uma mistura constituída por piridina:clorofórmio (8:2 em volume). Adicionou-se uma quantidade de 0,83 ml (2 equivalentes) de fenil-cloro-tio-no-carbonato e agitou-se a mistura (ou submeteu-se à acção de ultra-sons) até se dissolver o precipitado amarelo. Manteve-se essa solução à temperatura ambiente até se determinar por cromatografia de camada fina (CCF) que já não havia vestígios do acetato do ginkgolido C (2 a 16 horas). A seguir adicionou-se uma quantidade de 18 ml de tolueno à mistura de reacção e depois filtrou-se a solução através de um leito contendo 10 g de gel de sílica. Efectuou-se a eluição do produto com uma quantidade de 100 ml de uma mistura de tolueno:acetona (7:3 em volume). Este procedimento eliminou a coloração vermelha do produto. Evaporou-se o filtrado praticamente até à secagem e dissolveu-se novamente o líquido viscoso numa quantidade variável entre 5 e 10 ml de tolueno. Adicionou-se esta solução, gota a gota e sob agitação, a uma quantidade de 100 ml de n-hexano proporcionando o precipitado em flocos de cor amarelada. Filtrou-se o produto, lavou-se com 10 ml de n-hexano e secou-se sob pressão reduzida à temperatura ambiente para proporcionar uma quantidade de 1,07 g de um produto branco-sujo (58%).

EXEMPLO 4:

Passo 2: Preparação do éster imidazolil-tio-carbonílico em C-7 do valerato em C-10 do ginkgolido C.

Dissolveu-se uma quantidade de 524 mg (1 mM) do valerato em C-10 do ginkgolido C e também 244 mg (2 mM) de 4-dimetil-amino-piridina (DMAP) em 10 ml de acetonitrilo. Depois adicionou-se uma quantidade de 356 mg (2 mM) de 1,1'-tio-carbo-



nil-di-imidazol e agitou-se a mistura durante 2 horas à temperatura ambiente. Verificou-se que a reacção estava completa por CLER. A seguir adicionou-se 15 ml de tolueno e filtrou-se a solução através de 10 g de gel de sílica (Merck 7734). Este procedimento removeu a DMAP que se encontrava absorvida no gel de sílica. Efectuou-se a eluição adicionando uma quantidade de 25 ml de uma mistura de tolueno/acetonitrilo (7/3). Evaporou-se o filtrado praticamente até à secagem e adicionou-se 45 ml de n-heptano ou éter do petróleo) para precipitar o produto. Filtrou-se o precipitado através de um filtro de vidro sinterizado G4 e secou-se numa estufa de vácuo à temperatura ambiente para proporcionar uma quantidade de 457 mg de produto (72%).

EXEMPLO 5:

Passo 3: Reacção do éster 2,4,6-tricloro-fenoxi-tio-carbonílico em C-7 do acetato em C-10 do ginkgolido C com hidreto de tributil-estanho.

Utilizou-se um frasco rígido com a capacidade de 100 ml com tampa de alumínio isoladora forrada a teflon no qual se dissolveu uma quantidade de 360 mg (0,5 mM) de éster 2,4,6-tricloro-fenoxi-tio-carbonílico em C-7 do acetato em C-10 do ginkgolido C e 2,5 mg de a,a'-azo-isobutironitrilo (AIBN) em 35 ml de acetonitrilo. Purificou-se a solução fazendo borbulhar argon e adicionou-se uma quantidade de 0,54 ml (2 mM) de hidreto de tributil-estanho. Quebrou-se o frasco e aqueceu-se à temperatura de 75°C durante 4 horas em banho de óleo. Efectuou-se análise da mistura por CLER; recuperou-se uma quantidade de 191 mg de acetato em C-10 de ginkgolido B (rendimento de 82%).

EXEMPLO 6:

Passo 3: Reacção do éster imidazolil-tio-carbonílico em C-7 do valerato em C-10 do ginkgolido C com tris(trimetil-silil)silano

~~CONFIDENTIAL~~

Efectuou-se a reacção nas mesmas condições que foram descritas no exemplo 5 fazendo reagir o éster imidazolil-tio-carbonílico em C-7 do valerato em C-10 do ginkgolido C (191 mg - 0,03 mM) com tris(trimetil-silil)silano em vez de tributyl-estanho. Recuperou-se uma quantidade de 119 mg de valerato em C-10 do ginkgolido B (rendimento de 78%).

EXEMPLO 7:

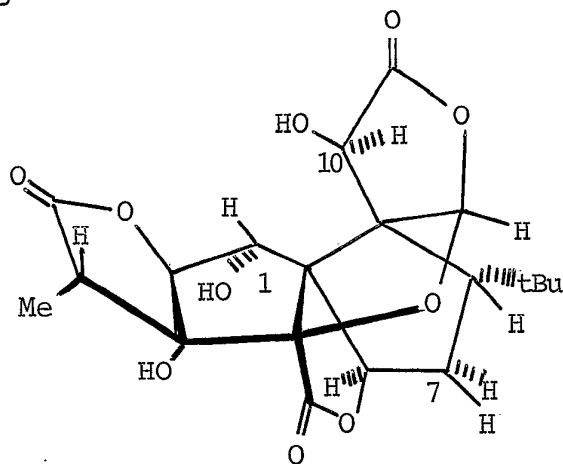
Passo 4: Reacção de desprotecção do acetato em C-10 do ginkgolido B.

Adicionou-se uma gota de uma solução de amônia a 30% à mistura de reacção obtida no exemplo 5. Após acidificação até ao valor de pH 3 com ácido clorídrico obteve-se uma quantidade de 130 mg de ginkgolido B (rendimento de 77%).

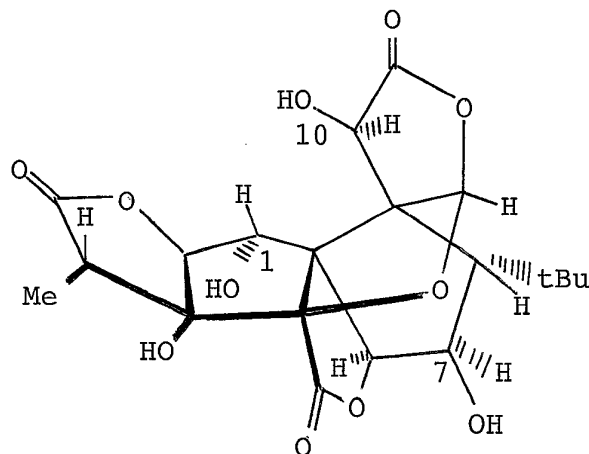
R E I V I N D I C A Ç Õ E S

- 1a -

Processo para a preparação de ginkgolido B de fórmula B



a partir de ginkgolido C de fórmula C



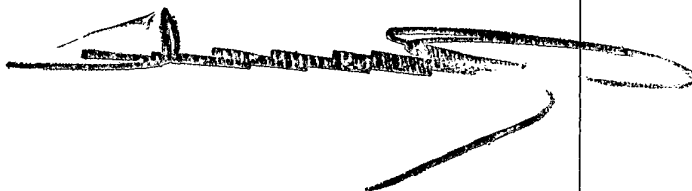
C

caracterizado pela seguinte sucessão de quatro passos:

- protecção do grupo 10-hidroxi do ginkgolido C por conversão num éster alquílico, efectuando-se a reacção em dimetil-formamida a uma temperatura compreendida aproximadamente entre 15 e 50°C durante um período de tempo variável entre 4 e 10 horas;

- activação do grupo 7-hidroxi do ginkgolido C resultante protegido na posição 10 por conversão num éster (R)tio-carbónico em que o símbolo R representa um grupo fenoxi, um grupo fenoxi substituído por um ou vários átomos de halogéneo, ou o grupo imidazolilo, tratando-o com um agente de activação seleccionado entre fenil-tio-carbonatos em que o grupo fenilo é facultativamente substituído por um ou vários átomos de halogéneo e com 1,1'-tio-carbonil-di-imidazol respectivamente, efectuando-se a activação em condições alcalinas para valores de temperatura compreendidos aproximadamente entre 0 e 40°C durante um período de tempo variável entre 1 e 24 horas;

- desoxigenação do grupo activado na posição 7 do ginkgolido C activado na posição 7 e protegido na posição 10, tratando-o com hidreto de tributil-estanho ou com tris-(trimetil-silil)-silano, num solvente aprótico, em presença de um gerador de radicais livres, efectuando-se a reacção a uma temperatura compreendida aproximadamente entre 70 e 110°C durante um período



de tempo variável entre 15 minutos e 3 horas sob uma atmosfera inerte, e

- clivagem do grupo de protecção para proporcionar o grupo 10-hidroxi a partir do ginkgolido B protegido na posição 10 referido antes.

- 2ª -

Processo de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo facto de o grupo hidroxi em C-10 ser protegido como éster acetílico, n-butírico ou n-valérico e por o agente de protecção para essa conversão ser respectivamente o anidrido acético, o anidrido n-butírico e o anidrido valérico.

- 3ª -

Processo de acordo com qualquer das reivindicações 1 ou 2, caracterizado pelo facto de se efectuar o primeiro passo a uma temperatura compreendida aproximadamente entre 20 e 40°C durante um período de tempo variável entre 7 e 9 horas.

- 4ª -

Processo de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 3, caracterizado pelo facto de o grupo 7-hidroxi do ginkgolido C ser convertido num éster (R)-carbonílico em que o símbolo R representa o grupo fenoxi, 2,4,6-tricloro-fenoxi, pentafluoro-fenoxi ou imidazolilo, tratando-o com 1 a 3 equivalentes de um agente activador seleccionado entre fenil-cloro-tiono-formato, 2,4,6-tricloro-fenil-cloro-tiono-formato, pentafluoro-fenil-cloro-tiono-formato e 1,1'-tio-carbonil-di-imidazol res-



respectivamente.

- 5a -

Processo de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 4, caracterizado pelo facto de se efectuar o segundo passo numa mistura de solventes que contenha pelo menos piridina (1 a 90% em volume) ou em acetonitrilo contendo entre 2 e 4 equivalentes de 4-(dimetil-amino)piridina.

- 6a -

Processo de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 5, caracterizado pelo facto de se efectuar o terceiro passo em solventes seleccionados entre acetonitrilo, benzeno, tolueno e suas misturas.

- 7a -

Processo de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 6, caracterizado pelo facto de se utilizar entre 2 e 4 equivalentes de hidreto de tributil-estanho ou tris-(trimetil-silil)silano em presença de um gerador de radicais livres seleccionado entre a,a-azo-isobutironitrilo e hidroperóxido de terc.-butilo.

- 8a -

• Processo de acordo com a reivindicação 7, ca-
• racterizado pelo facto de a atmosfera ser constituída por azoto
• ou argon.

- 12 -

- 9a -

Processo de acordo com qualquer das reivindicações 1 a 8, caracterizado pelo facto de a clivagem do grupo de protecção na posição 10 se efectuar em presença de uma solução de amónia concentrada seguida por acidificação para manter fechados os anéis da lactona.

- 10a -

Ginkgolido B sempre que preparado em conformidade com qualquer das reivindicações 1 a 9.

A requerente reivindica a prioridade do pedido britânico apresentado em 9 de Abril de 1991, sob o número 9107425.2

Lisboa, 8 de Abril de 1992

O AGENTE OFICIAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL





R E S U M O

PROCESSO PARA A PREPARAÇÃO DE GINKGOLIDO B A PARTIR DE GINKGOLIDO

A invenção refere-se a um processo para a preparação de ginkgolido B a partir do ginkgolido C e refere-se também ao ginkgolido B assim obtido.

O processo em causa compreende a seguinte sucessão de quatro passos:

- protecção do grupo 10-hidroxi do ginkgolido C por conversão num éster alquílico, efectuando-se a reacção em dimetil-formamida a uma temperatura compreendida aproximadamente entre 15 e 50°C durante um período de tempo variável entre 4 e 10 horas;

- activação do grupo 7-hidroxi do ginkgolido C resultante protegido na posição 10 por conversão num éster (R)tio-carbónico, efectuando-se a activação em condições alcalinas para valores de temperatura compreendidos aproximadamente entre 0 e 40°C durante um período de tempo variável entre 1 e 24 horas;

- desoxidação do grupo activado na posição 7 do ginkgolido C activado na posição 7 e protegido na posição 10, tratando-o com hidreto de tributil-estanho ou com tris-(trimetil-silil)silano, num solvente aprótico, em presença de um gerador de radicais livres, efectuando-se a reacção a uma temperatura compreendida aproximadamente entre 70 e 110°C durante um período de tempo variável entre 15 minutos e 3 horas sob uma atmosfera inerte, e

- clivagem do grupo de protecção para proporcionar o grupo 10-hidroxi a partir do ginkgolido B protegido na posição 10 referido antes.

•
•
•