



MINISTERE DES AFFAIRES ECONOMIQUES

NUMERO DE PUBLICATION : 1007016A3

NUMERO DE DEPOT : 09100441

Classif. Internat. : C12P C07D

Date de délivrance le : 21 Février 1995

Le Ministre des Affaires Economiques,

Vu la Convention de Paris du 20 Mars 1883 pour la Protection de la propriété industrielle;

Vu la loi du 28 Mars 1984 sur les brevets d'invention, notamment l'article 22;

Vu l'arrêté royal du 2 Décembre 1986 relatif à la demande, à la délivrance et au maintien en vigueur des brevets d'invention, notamment l'article 28;

Vu le procès verbal dressé le 13 Mai 1991 à 15H15 à l'Office de la Propriété Industrielle

ARRETE :

ARTICLE 1.- Il est délivré à : SOCIETE DE CONSEILS DE RECHERCHES ET D'APPLICATIONS SCIENTIFIQUES (S.C.R.A.S.)
rue du Docteur Blanche 51/53, F-75016 PARIS(FRANCE)

représenté(e)s par : KUBORN Jacques, OFFICE HANSSENS S.P.R.L., Square Marie-Louise, 40 Bte 19 - B 1040 BRUXELLES.

un brevet d'invention d'une durée de 20 ans, sous réserve du paiement des taxes annuelles, pour : METHODE DE PREPARATION DE DERIVES DE FURO (3,4-c) PYRIDINE SOUS FORME NON-RACEMIQUE.

INVENTEUR(S) : Eck Charles R., Maple Ave. 191, Shrewsbury, MA 01545 (US); Ahrens Paul, NW 17th Street 611, Corvallis, OR 97330 (US); Saltzstein Rae Marie, Russ Ct. 460, Mc Minnville, OR 97128 (US)

PRIORITE(S) 14.05.90 US USA 523238

ARTICLE 2.- Ce brevet est délivré sans examen préalable de la brevetabilité de l'invention, sans garantie du mérite de l'invention ou de l'exactitude de la description de celle-ci et aux risques et périls du(des) demandeurs(s).

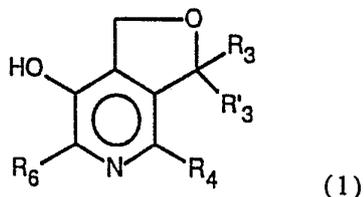
Bruxelles, le 21 Février 1995
PAR DELEGATION SPECIALE :

WUYTS L.
Directeur.

METHODE DE PREPARATION DE DERIVES DEFURO [3,4-c] PYRIDINE SOUS FORME NON-RACEMIQUE

L'invention concerne une méthode de préparation sous forme non-racémique, (c'est-à-dire sous forme d'un énantiomère seul ou d'un mélange dans lequel l'un des énantiomères est prédominant), de dérivés de furo [3,4-c] pyridine et les produits ainsi obtenus.

L'invention concerne plus particulièrement une méthode de préparation, sous forme non-racémique de dérivés de furo [3,4-c] pyridine de formule

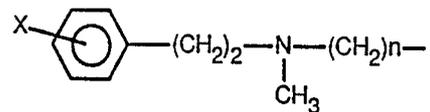


et de leurs sels pharmaceutiquement acceptables, dans lesquels

- R_3 et R'_3 représentent, indépendamment un atome d'hydrogène, un groupe cyano ; un groupement alcoyle linéaire, saturé ou insaturé ; un groupement hétérocyclique de 3 à 6 chaînons ; un groupement cycloalcoyle de 3 à 6 chaînons ; un groupement phényle, phénylcoyle ou phénylcoylène, chacun pouvant être substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène, groupements trifluoroalcoyle, alcoyle inférieur, alcoxy inférieur, thioalcoyle inférieur, dialcoylamino, dialcoylaminoalcoxy ou des groupements α - ou β -alcoxy-N-pyrrolidinyle ; avec la condition suivante : dans chacune des occurrences ci-dessus, chaque radical

- 2 -

alcoyle ou alcoxy comprend 1 à 5 atomes de carbone ; ou un groupement de formule



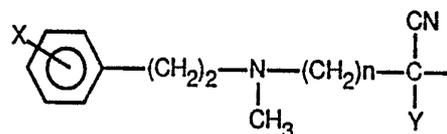
dans lequel n prend les valeurs 2, 3, 4 ou 5 et X représente 1 à 3 groupements méthoxy ;

5 - R₄ représente un atome d'hydrogène ou d'halogène ;

- R₆ représente un groupement alcoyle linéaire ou ramifié, ou un groupement alcoylène, tous deux comprenant de 1 à 5 atomes de carbone, et pouvant être substitués par un ou plusieurs groupements hydroxy, cyano, amino, amino

10 substitué, alcoyle ou alcoylène comprenant de 1 à 4 atomes de carbone ;

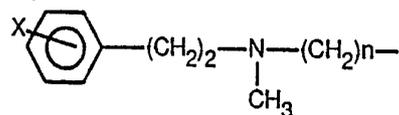
ou un groupe de formule



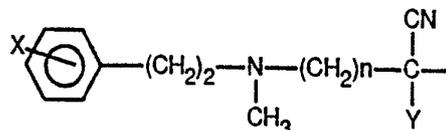
dans lequel n et X sont comme définis ci-dessus, et Y représente un groupement alcoyle linéaire ou ramifié

15 comprenant de 1 à 5 atomes de carbone ;

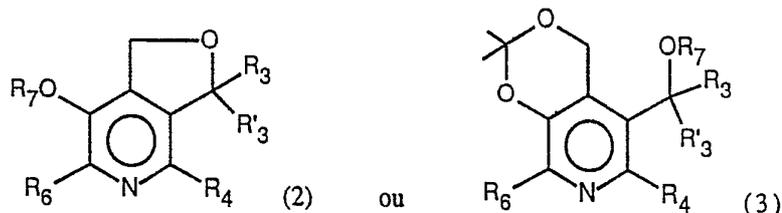
avec la restriction suivante : lorsque l'un des substituants R₃ et R'₃ représente le groupement cyano, et l'autre le groupe de formule



alors R₆ ne peut représenter le groupe de formule



la méthode comprenant la résolution d'un mélange racémique de l'un des composés de formules :



dans laquelle R₃, R'₃, R₄, R₆ sont comme définis ci-dessus et R₇ représente un groupement acyl comprenant de 1 à 18 atomes de carbone, en soumettant le composé sélectionné à l'action d'une estérase capable d'hydrolyser l'énantiomère (+) ou (-) dudit composé, puis en séparant le composé hydrolysé et le composé non-hydrolysé.

Le taux d'hydrolyse enzymatique obtenu dépend du composé de départ sélectionné et de la longueur de sa chaîne acyle mais aussi de l'estérase utilisée. Ainsi, pour l'obtention du composé souhaité, 4 voies sont à envisager comme le décrivent les schémas I et II, dans lesquels l'estérase est supposée hydrolyser de préférence la forme (+).

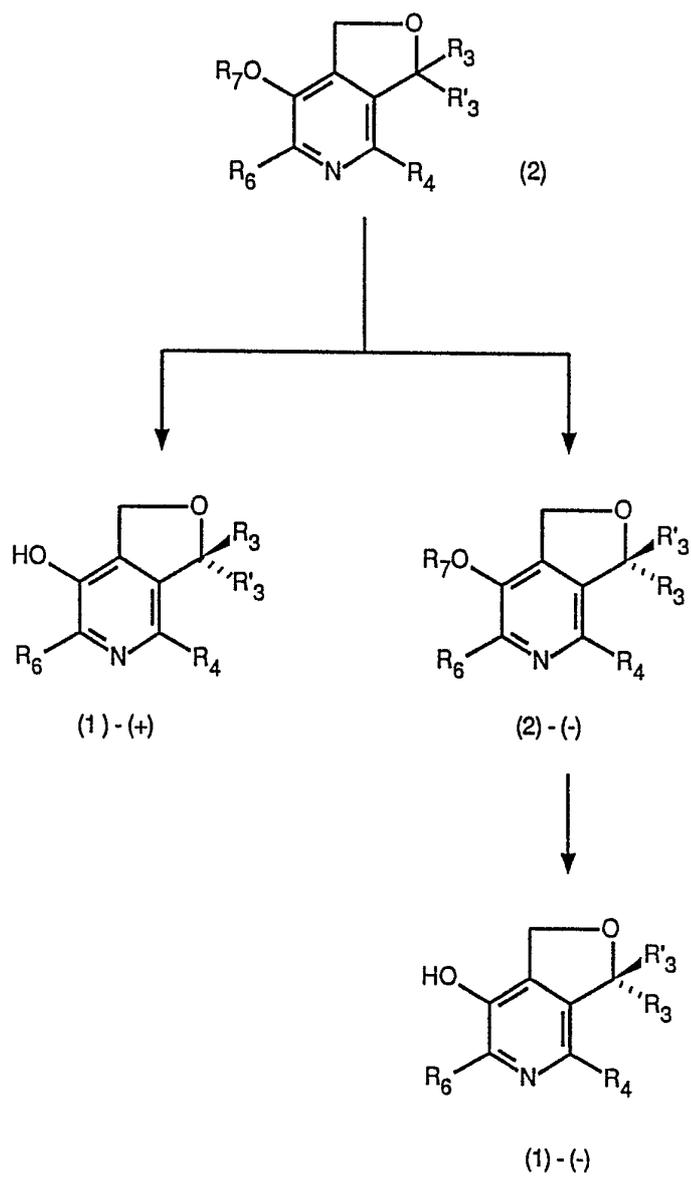
Dans le cas où le composé (2) est utilisé comme produit de départ,

- soit le composé hydrolysé est le composé souhaité,
- soit le composé hydrolysé n'est pas le composé souhaité, et le composé non-hydrolysé doit être désestérifié.

Dans le cas où le composé (3) est utilisé comme produit de départ,

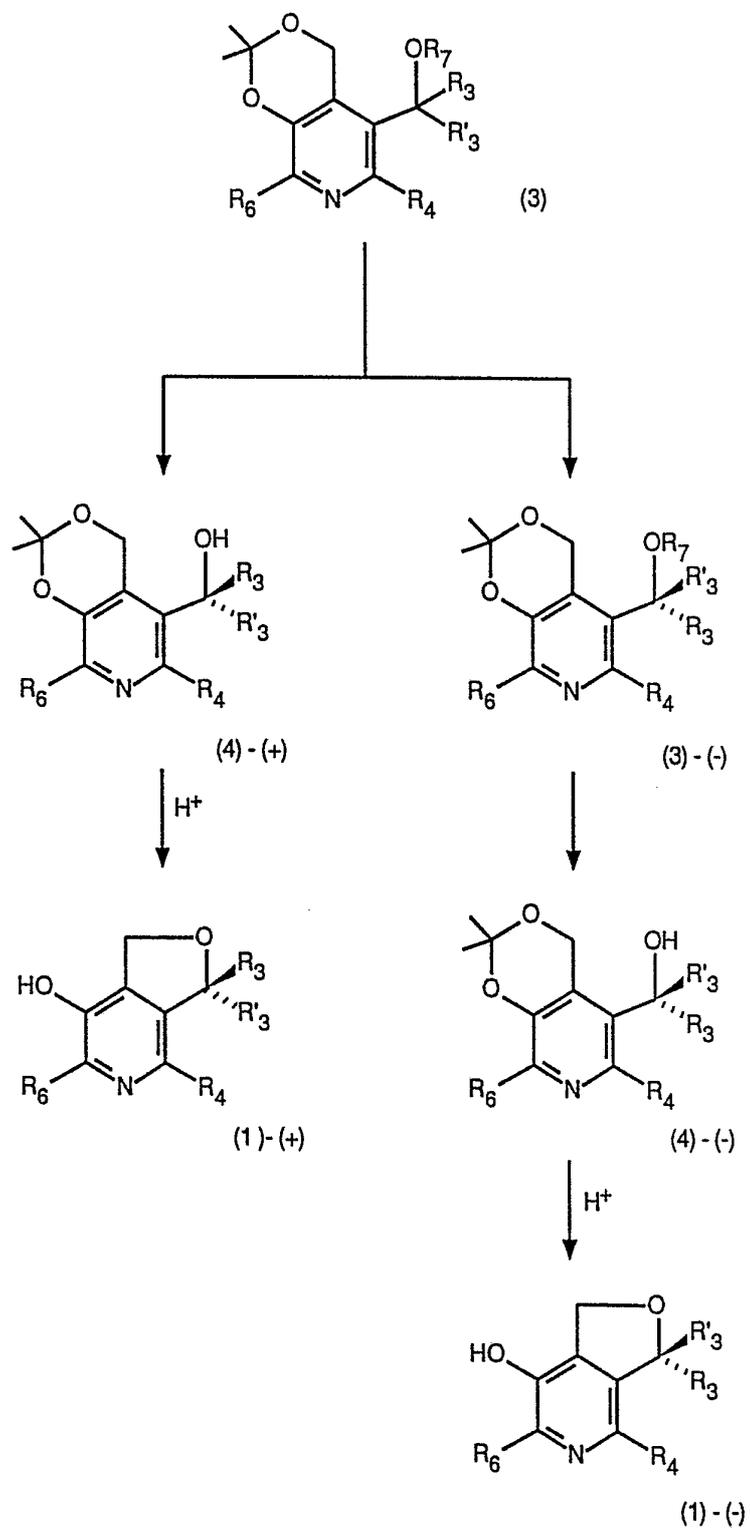
- soit le composé hydrolysé est le précurseur souhaité, et une déprotection permet l'obtention de l'énantiomère souhaité de la furo [3,4-c] pyridine,
- soit le composé hydrolysé n'est pas le précurseur souhaité, et le composé non-hydrolysé doit être désestérifié puis déprotégé.

- 4 -



I

- 5 -



II

- 6 -

Les estérases sont sélectionnées parmi le groupe comprenant la protéinase-sérine (EC 3.2.21), l' α -chymotrypsine (EC 3.4.21.1), la trypsine, la lipase, la lipase de germe de blé (EC 3.1.1.3), la lipase de pancréas de porc, avec une préférence pour l' α -chymotrypsine.

Lors de la séparation du composé hydrolysé et du composé non-hydrolysé, on utilise un solvant dans lequel les composés présentent une différence de solubilité.

Les composés (2) et (3) R_7 -estérifiés, et utilisés comme produit de départ, peuvent être préparés par des méthodes usuelles d'estérification, à partir des composés hydroxylés correspondants.

Les composés de la formule (1) et leurs précurseurs non-estérifiés de la formule (3), sous forme racémique, sont décrits par exemple dans les brevets ou demandes de brevets belges No. 891 797, 899 222, 900 780, 900 941, 900 942, 901 545, 903 438 et brevet européen No. 0 168 288. Ils présentent différentes activités thérapeutiques, mais il a été découvert, pour la plupart d'entre eux, que l'un des stéréoisomères était plus actif que l'autre. Il était donc souhaitable de trouver une méthode pour les séparer.

L'invention sera mieux comprise par la description des exemples suivants.

EXEMPLE 1

Résolution du (-)-(chloro-4 phényl)-3-dihydro-1,3-hydroxy-7-méthyl-6 furo [3,4-c] pyridine
 $R_3=H$ $R'_3=p\text{-chlorophényl}$ $R_4=H$ $R_6=\text{méthyl}$
 Composé de départ : (\pm)-(chloro-4 phényl)-3-dihydro-1,3-acétoxy-7-méthyl-6 furo [3,4-c] pyridine ($R_7=\text{acétyl}$; composé (2))

Le taux d'hydrolyse est déterminé à l'aide d'une colonne chromatographie-liquide à haute performance en phase inverse C-18 Phénomex 10 micron (30 x 3,9 mm). La phase mobile est un mélange isocratique d'acétate d'ammonium (0,05 M, pH=4,5) et de méthanol (2:3), de 1,0 ml/minute de débit. La détection s'effectue à 254 nm. Le (±)-1 élue approximativement à 4 minutes, alors que le (±)-2 élue aux environs de 5 minutes.

La stéréospécificité de la réaction est déterminée sur une colonne chromatographie liquide haute performance Chiralcel OJ (25 x 0,46 cm). La phase mobile est un mélange d'hexane et d'alcool isopropylique (3:1), de 1,5 ml/minute de débit. La détection s'effectue aussi à 254 nm. Dans ces conditions, les énantiomères (-)-1 et (+)-1 éluent respectivement aux environs de 4 et 6 minutes. Les énantiomères (-)-2 et (+)-2 éluent aux environs de 8 et 10 minutes, l'ordre exact de l'élution n'étant pas connu.

lère étape: hydrolyse enzymatique du (±)-(chloro-4 phényl)-3-dihydro-1,3-acétoxy-7-méthyl-6 furo [3,4-c] pyridine

300 mg de (±)-(chloro-4 phényl)-3-dihydro-1,3-acétoxy-7-méthyl-6 furo [3,4-c] pyridine (qui peut être obtenu à partir du (±)-(chloro-4 phényl)-3-dihydro-1,3-hydroxy-7-méthyl-6 furo [3,4-c] pyridine par des méthodes usuelles d'estérification), sont dissouts dans 30 ml d'acétonitrile puis ajoutés dans un Erlenmeyer contenant 3 g d' α -chymotrypsine (Sigma, C-4129) dans 270 ml d'un tampon phosphate 0,05 M (pH=7). Le mélange d'incubation est ainsi agité à température ambiante pendant 3 heures afin de permettre l'hydrolyse.

2ème étape : Isolation du (-)-(chloro-4 phényl)-3-dihydro-1,3-hydroxy-7-méthyl-6 furo [3,4-c] pyridine

Suite à l'hydrolyse enzymatique, l' α -chymotrypsine est filtrée et le pH du filtrat est ajusté à pH 10 avec une solution d'hydroxyde de sodium 0,2 N. La solution aqueuse est ensuite extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 x 100 ml) ; l'ester (+)-2 non-hydrolysé est de préférence extrait de la phase organique. Le pH de la phase aqueuse est ajusté à pH 3 avec une solution d'acide chlorhydrique 2 N et le précipité (100 mg) est collecté par filtration par succion. La recristallisation du solide brut dans du méthanol, permet d'obtenir 75 mg du composé (-)-1 (par utilisation de chromatographie liquide haute performance tel que décrit ci-dessus).

15 EXEMPLE 2

Résolution du (\pm)-triméthyl-2,2,8-(chloro-4- α -acétoxybenzyl)-5 pyrido [3,4-e]-dioxane-1,3
(R₃=H R'₃=p-chlorophényl R₄=H R₆=méthyl R₇= acétyl ; composé (3))

20 Le taux d'hydrolyse est mesuré comme dans l'exemple 1. L'ester acétate ((\pm)-3) élue aux environs de 9 minutes, alors que le composé (\pm)-4 hydroxylé correspondant élue autour de 5,5 minutes. La stéréospécificité est mesurée comme dans l'exemple 1 mais avec un débit de la phase mobile de 0,25 ml/minute. Dans ces conditions, les énantiomères (-)-4 et (+)-4 éluent respectivement à 22 et 24 minutes. Les énantiomères (-)-3 et (+)-3 éluent à 25 et 30 minutes, l'ordre exact d'élution n'étant pas connu.

30 10 g de (\pm)-triméthyl-2,2,8-(chloro-4- α -acétoxybenzyl)-5 pyrido [4,3-e]-dioxane-1,3 (préparé à partir du composé hydroxylé correspondant par des méthodes usuelles d'estérification), sont dissouts dans 200 ml d'acétone et

- 9 -

ajouté dans un Erlenmeyer contenant 10 g d' α -chymotrypsine (Sigma, C-4129) dans 1 800 ml d'un tampon phosphate 0,05 M (pH=7). Le mélange réactionnel est ainsi agité pendant 24 heures à température ambiante, puis l'acétone est éliminée par évaporation rotatoire et la solution aqueuse restante est extraite avec de l'acétate d'éthyle (3 x 500 ml). Après séchage sur sulfate de sodium et évaporation du solvant, le solide brut est redissout dans un mélange de chlorure de méthylène (20 ml) et de méthanol (5 ml), puis chargé au sommet d'une colonne de gel de silice (150 g), et élué avec du chlorure de méthylène/méthanol (98:2). Deux petites fractions sont ainsi collectées et déterminées comme étant le (-)- triméthyl-2,2,8- (chloro-4- α -hydroxy-benzyl)-5 pyrido [4,3-e]-dioxane-1,3 (3,5 g) et le (+)-triméthyl-2,2,8-(chloro-4- α -acétoxy-benzyl)-5-pyrido-[4,3-e] dioxane-1,3 (3,2 g).

Les préparations comprenant l'utilisation d'enzymes autres que l' α -chymotrypsine et/ou de mélanges racémiques différents de celui présenté, sont réalisées de façon similaire à celles décrites dans les exemples 1 et 2.

EXEMPLE 3

Résolution du (-)- (furyl-2)-3-dihydro-1,3-hydroxy-7-éthyl-6 furo [3,4-c] pyridine

$R_3=H$ $R'_3=furyl-2$ $R_4=H$ $R_6=éthyl$

La résolution est identique à celle décrite dans l'exemple 1, en résolvant un mélange racémique du (\pm)-(furyl-2)-3-dihydro-1,3 - capryloxy-7-éthyl-6 furo [3,4-c] pyridine ($R_7=caprylyl$; composé (2)), en utilisant la protéinase sérine comme estérase.

EXEMPLE 4

Résolution du (\pm)-diméthyl-2,2-éthyl-8-(α -caprylyloxy
furfuryl) - 5 - pyrido [4,3-e] - dioxane - 1,3
5 (R₃=H R'₃=furyl-2 R₄=H R₆=éthyl R₇=caprylyl ;
composé (3))

La résolution est identique à celle décrite dans
l'exemple 2, la protéinase sérine ayant été choisie comme
estérase.

EXEMPLE 5

10 Résolution du (-)-diméthyl-3,3-dihydro-1,3-hydroxy-7-
propyl-6 furo [3,4-c] pyridine
R₃=méthyl R'₃=méthyl R₄=H R₆=propyl

15 La résolution est identique à celle décrite dans
l'exemple 1, en résolvant un mélange racémique du
(\pm) diméthyl - 3,3 - dihydro - 1,3 - lauroyloxy- 7-propyl-6
furo [3,4-c] pyridine (R₇=lauroyl ; composé (2)), en
utilisant la lipase comme estérase.

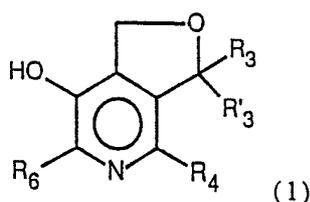
EXEMPLE 6

20 Résolution du (\pm) diméthyl-2,2-propyl-8-
(méthyl-1'lauroyloxy-1''éthyl)-5 pyrido [4,3-e] dioxane-1,3
(R₃=méthyl R''₃=méthyl R₄=H R₆=propyl R₇=lauroyl ;
composé (3))

La résolution est identique à celle décrite dans
l'exemple 2, la lipase ayant été choisie comme estérase.

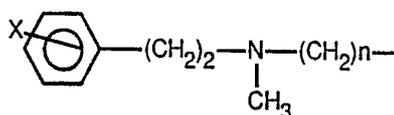
REVENDICATIONS

1- Méthode de préparation, sous forme non-racémique, de dérivés de furo [3,4-c] pyridine de formule



et de leurs sels pharmaceutiquement acceptables, dans
5 lesquels

- R₃ et R'₃ représentent, indépendamment un atome d'hydrogène, un groupe cyano ; un groupement alcoyle linéaire, saturé ou insaturé ; un groupement hétérocyclique de 3 à 6 chaînons ; un groupement cycloalcoyle de 3 à 6
10 chaînons ; un groupement phényle, phénylcoyle ou phénylcoylène, chacun pouvant être substitué par un ou plusieurs atomes d'halogène, groupements trifluoroalcoyle, alcoyle inférieur, alcoxy inférieur, thioalcoyle inférieur, dialcoylamino, dialcoylaminoalcoxy ou des groupements α- ou
15 β-alcoxy-N-pyrrolidinyle ; avec la condition suivante : dans chacune des occurrences ci-dessus, chaque radical alcoyle ou alcoxy comprend 1 à 5 atomes de carbone ; ou un groupement de formule



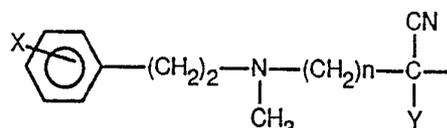
20 dans lequel n prend les valeurs 2, 3, 4 ou 5 et X représente 1 à 3 groupements méthoxy ;

- R₄ représente un atome d'hydrogène ou d'halogène ;

- R₆ représente un groupement alcoyle linéaire ou ramifié, ou un groupement alcoylène, tous deux comprenant de 1 à 5 atomes de carbone et pouvant être substitués par
25 un ou plusieurs groupements hydroxy, cyano, amino, amino substitué, alcoyle ou alcoylène comprenant de 1 à 4 atomes de carbone ;

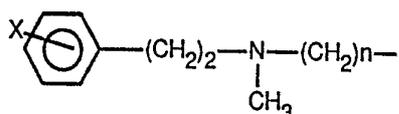
- 12 -

ou un groupement de formule

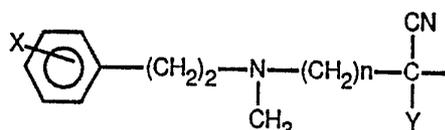


dans lequel n et X sont comme définis ci-dessus, et Y représente un groupement alcoyle linéaire ou ramifié comprenant de 1 à 5 atomes de carbone ;

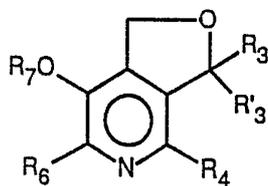
- 5 avec la restriction suivante : lorsque l'un des substituants R₃ et R'₃ représente le groupement cyano, et l'autre le groupe de formule



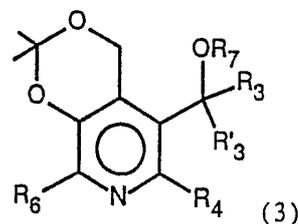
alors R₆ ne peut représenter le groupe de formule



- 10 la méthode comprenant la résolution d'un mélange racémique de l'un des composés de formules :



(2) ou



(3)

- 15 dans lesquelles R₃, R'₃, R₄, R₆ sont comme définis ci-dessus et R₇ représente un groupement acyl comprenant de 1 à 18 atomes de carbone, en soumettant le composé sélectionné à l'action d'une estérase capable d'hydrolyser l'énantiomère (+) ou (-) dudit composé, puis en séparant le composé hydrolysé et le composé non-hydrolysé.

- 2- Méthode selon la revendication 1, dans laquelle les estérases sont sélectionnées parmi le groupe comprenant la protéinase-sérine, l' α -chymotrypsine, la trypsine, la lipase, la lipase de germe de blé, la lipase de pancréas de porc.
- 5
- 3- Méthode selon les revendications 1 ou 2, dans laquelle le composé de départ est le composé (2).
- 4- Méthode selon les revendications 1 ou 2, dans laquelle le composé de départ est le composé (3).
- 10 5- Méthode selon les revendications 1 à 4, dans laquelle R_3 est l'atome d'hydrogène, R'_3 le radical p-chlorophényl, R_4 l'atome d'hydrogène et R_6 le radical méthyl.
- 15 6- Méthode selon les revendications 1 à 4, dans laquelle R_3 est l'atome d'hydrogène, R'_3 le radical furyl-2, R_4 l'atome d'hydrogène et R_6 le radical éthyl.
- 7- Méthode selon les revendications 1 à 4, dans laquelle R_3 est le radical méthyl, R'_3 le radical méthyl, R_4 l'atome d'hydrogène, R_6 le radical propyl.
- 20 8- Enantiomères ou mélanges d'enantiomères de la furo [3,4-c] pyridine, dans lesquels l'un des énantiomères est largement prédominant lorsqu'ils sont obtenus par les méthodes selon les revendications 1 à 7.



Office européen
des brevets

RAPPORT DE RECHERCHE
établi en vertu de l'article 21 § 1 et 2
de la loi belge sur les brevets d'invention
du 28 mars 1984

Numero de la demande
nationale

BO 2936
BE 9100441

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS			
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	Revendication concernée	CLASSEMENT DE LA DEMANDE (Int.Cl.5)
X	EP-A-0 337 858 (SCRAS) 18 Octobre 1989 * revendications * ---	8	C12P41/00 C12P17/18 C07D491/04
A	EP-A-0 101 076 (KANEGAFUCHI) 22 Février 1984 * revendications * ---	1	
P,X	GB-A-2 230 006 (SCRAS) 10 Octobre 1990 * revendications * ---	8	
P,X	GB-A-2 234 244 (SCRAS) 30 Janvier 1991 * revendications * -----	8	
			DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int.Cl.5)
			C12P C07D
Date d'achèvement de la recherche		Examineur	
20 Janvier 1994		Delanghe, L	
CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES			
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 antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons & : membre de la même famille, document correspondant	

1

EPO FORM 1503 03.82 (P04C48)

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET BELGE NO.**

BO 2936
BE 9100441

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche visé ci-dessus.

Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

20-01-1994

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
EP-A-0337858	18-10-89	AU-B- 616753	07-11-91
		AU-A- 3419089	03-11-89
		CH-A- 680000	29-05-92
		WO-A- 8909772	19-10-89
		FR-A- 2629820	13-10-89
		FR-A- 2629821	13-10-89
		GB-A- 2235194	27-02-91
		JP-T- 2504394	13-12-90
		NL-A- 8920307	01-03-90
		OA-A- 9247	30-06-92
		US-A- 5026855	25-06-91
EP-A-0101076	22-02-84	JP-B- 1056760	01-12-89
		JP-C- 1572533	25-07-90
		JP-A- 59031693	20-02-84
		JP-A- 59078696	07-05-84
		US-A- 4588694	13-05-86
GB-A-2230006	10-10-90	BE-A- 1002438	12-02-91
		CA-A- 2013649	03-10-90
		CH-A- 680733	30-10-92
		DE-A- 4010657	04-10-90
		WO-A- 9315082	05-08-93
		FR-A- 2645151	05-10-90
		JP-A- 2289578	29-11-90
		NL-A- 9000730	01-11-90
		US-A- 5047537	10-09-91
		GB-A-2234244	30-01-91
AU-A- 5981390	31-01-91		
BE-A- 1004520	08-12-92		
CH-A- 681983	30-06-93		
DE-A- 4023980	31-01-91		
FR-A- 2650278	01-02-91		
JP-A- 3066690	22-03-91		
LU-A- 87776	11-12-90		
NL-A- 9001612	18-02-91		
NO-B- 174150	13-12-93		
OA-A- 9221	30-06-92		
SE-A- 9002508	28-01-91		

EPO FORM P0463

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82

**ANNEXE AU RAPPORT DE RECHERCHE
RELATIF A LA DEMANDE DE BREVET BELGE NO.**

BO 2936
BE 9100441

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents brevets cités dans le rapport de recherche visé ci-dessus.

Lesdits membres sont contenus au fichier informatique de l'Office européen des brevets à la date du

Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l'Office européen des brevets.

20-01-1994

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
GB-A-2234244		US-A- 5043448	27-08-91

EPO FORM P0463

Pour tout renseignement concernant cette annexe : voir Journal Officiel de l'Office européen des brevets, No.12/82