

Le dédoublement par cristallisation, un siècle et demi après Pasteur : une question toujours d'actualité

André Collet* professeur

L'essor de la synthèse asymétrique, de la chromatographie chirale et des bioconversions auquel nous avons assisté au cours des deux dernières décennies n'a pas pour autant supplanté les méthodes "traditionnelles" de dédoublement des racémiques par cristallisation, découvertes par Louis Pasteur au milieu du siècle dernier. Il est légitime de s'interroger sur les raisons de cette persistance. S'agit-il, comme certains le pensent, d'un combat d'arrière-garde, ou, à l'inverse, la cristallisation a-t-elle encore un avenir ? Posée de cette façon, la question n'a guère de sens : en matière de procédé industriel, seule la réalité économique compte, et si aujourd'hui le dédoublement par cristallisation fournit les deux tiers des principes actifs pharmaceutiques qui ne proviennent pas eux-mêmes directement de substances naturelles [1], c'est sans doute que la méthode possède de solides atouts.

Il ne faut pas croire, en effet, que le dédoublement par cristallisation est resté en l'état depuis l'époque de Pasteur - si c'était le cas, on n'en parlerait plus guère aujourd'hui. A l'instar des autres méthodes, la cristallisation a fait des progrès très significatifs, et tout particulièrement au cours des dernières années, grâce à une meilleure compréhension des équilibres entre phases qui constituent la clé du phénomène. Le terme "traditionnel" ne s'applique plus guère à beaucoup des procédés actuels de dédoublement, qui reposent sur des principes physico-chimiques parfaitement maîtrisés. C'est dans cet esprit que nous examinerons successivement ici quelques applications modernes des deux grandes méthodes pastoriennes, à savoir le dédoublement par cristallisation de diastéréoisomères et le dédoublement par cristallisation directe des racémiques.

Cristallisation de diastéréoisomères

Malgré une médiocre réputation, due principalement à une mauvaise information ou à une pratique incorrecte, le dédou-

* École normale supérieure de Lyon/Institut Universitaire de France, Stéréochimie et interactions moléculaires, Unité mixte de recherche CNRS/ENS-Lyon (UMR 117), 46, allée d'Italie, 69364 Lyon Cedex 07. Tél. : 72.72.83.93. Fax : 72.72.84.83.

blement par cristallisation de diastéréoisomères est une technique dont l'intérêt peut être facilement illustré par quelques exemples industriels importants. La D-phénylglycine et la D-*p*-hydroxyphénylglycine sont ainsi produites par DSM à une échelle dépassant les 1 000 tonnes par an pour chacun d'entre eux, par cristallisation de leurs sels diastéréoisomères avec les acides (+)-10-camphre-sulfonique et (+)- α -bromo- π -camphresulfonique, respectivement. On sait que la D-phénylglycine et la D-*p*-hydroxyphénylglycine sont utilisées dans la production de l'ampicilline et de l'amoxicilline, antibiotiques majeurs dont le marché annuel représente plus de 15 milliards de francs. Dans les deux cas, l'acide aminé L non désiré est racémisé et recyclé de sorte que la quasi-totalité du racémique est finalement transformée en énantiomère utile.

Le S-naproxène, qui est aujourd'hui le chef de file des anti-inflammatoires non-stéroïdiens, avec un chiffre d'affaires annuel dépassant les 5 milliards de francs, est actuellement produit par Syntex par un procédé dont la simplicité et l'élégance n'ont rien à envier aux plus belles synthèses asymétriques (figure 1). Le racémique est obtenu en une étape (> 90 %) par réaction du magnésien de la bromonéroline avec le sel chloromagnésien de l'acide 2-bromopropionique. Autrefois dédoublé par la cinchonidine, il l'est maintenant par une amine originale (N-alkylglucamine) dont la recherche a été conduite de manière systématique. De plus, le procédé utilise la méthode de Pope et Peachey (1899), qui consiste à utiliser 1/2 équivalent de base chirale et 1/2 de base achirale. Cette vieille méthode, dont l'utilisation est très délicate, a été remise à jour à la suite d'une étude physico-chimique détaillée effectuée par le groupe de J. Jacques au Collège de France [2]. Le sel diastéréoisomère désiré précipite avec un rendement presque quantitatif, et fournit directement le S-naproxène, la glucamine auxiliaire étant récupérée à plus de 98 %, tandis que les eaux-mères

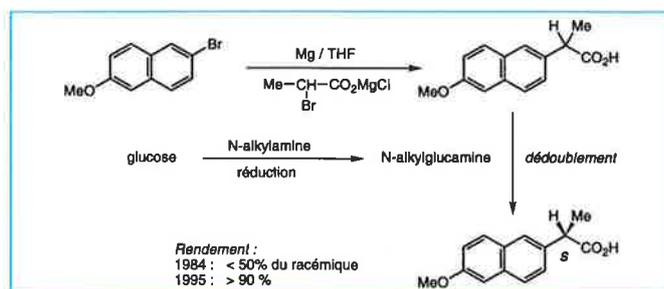


Figure 1 - Le procédé Syntex pour la production du S-naproxène en 1995.

contenant le sel d'amine achirale du *R*-naproxène sont racémisées par chauffage. Grâce à ces améliorations, le rendement du dédoublement, qui était inférieur à 50 % du racémique en 1984, dépasse maintenant les 90 %. Ce résultat est largement dû à une approche rationnelle prenant en compte la physico-chimie des équilibres entre phases [3].

La production de *S*-naproxène a été estimée autour de 1 000 tonnes en 1992, et, du fait de la probable libéralisation de ce médicament (actuellement vendu sur ordonnance), le marché pourrait décupler au cours des prochaines années. Ceci donne une idée de l'enjeu industriel : 1 % du marché représenterait 100 tonnes de *S*-naproxène. Le procédé Syntex est non seulement techniquement efficace, mais aussi difficile à battre économiquement. L'une des raisons de sa supériorité tient simplement au coût de la matière première qu'il utilise. La bromonéroline est, en effet, actuellement le seul produit de départ utilisable pour la synthèse du naproxène qui soit accessible à un coût acceptable, autour de 50 F le kg. Les principaux procédés concurrents, la synthèse diastéréosélective de Zambon et les synthèses asymétriques d'Union Carbide et de Monsanto (figure 2), utilisent comme point de départ des composés au minimum deux fois plus chers ce qui, compte tenu des tonnages concernés et des contraintes de prix final, paraît constituer un lourd handicap. A l'heure actuelle, seuls d'autres procédés de dédoublement avec racémisation simultanée pourraient sans doute rivaliser avec le procédé Syntex.

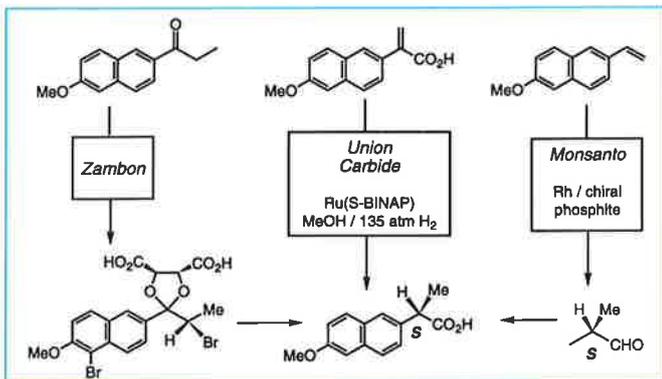


Figure 2 - Procédés industriels concurrents pour la production du *S*-naproxène. Le coût des précurseurs naphthaléniques est très supérieur à celui de la bromonéroline utilisée par Syntex.

La plupart des dédoublements industriels modernes, surtout lorsqu'ils concernent des tonnages importants, prennent en compte l'exigence de la valorisation ou du recyclage de l'énan-

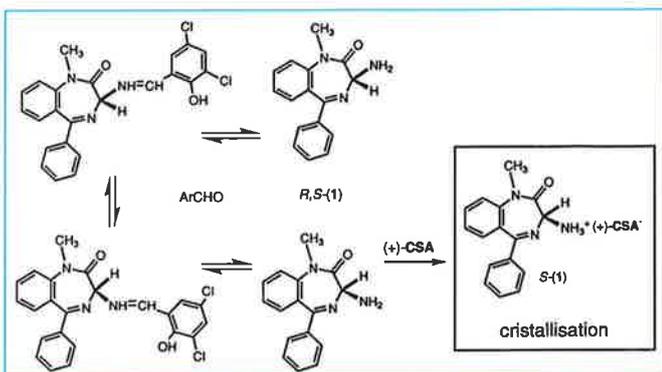


Figure 3 - Transformation asymétrique de sels diastéréoisomères. Procédé Merck pour la préparation de l'intermédiaire MK-329.

tiomère non désiré. Dans ce contexte, la transformation asymétrique de diastéréoisomères induite par cristallisation peut représenter une solution simple et expéditive pour les composés épimérisables. Elle peut s'appliquer à des sels aussi bien qu'à des diastéréoisomères covalents. La préparation de l'intermédiaire MK-329 de Merck (figure 3) et celle de la deltaméthrine de Roussel Uclaf (figure 4) en fournissent deux illustrations. La deltaméthrine, chef de file des pyréthroides de synthèse, était produite en 1990 à hauteur de 500 tonnes, équivalant en pouvoir insecticide à 75 000 tonnes de DDT [4]. Dans des procédés de ce type, l'étude des équilibres entre phases pourrait très certainement se révéler d'une grande utilité en permettant une mise au point plus rapide des bonnes conditions opératoires [5].

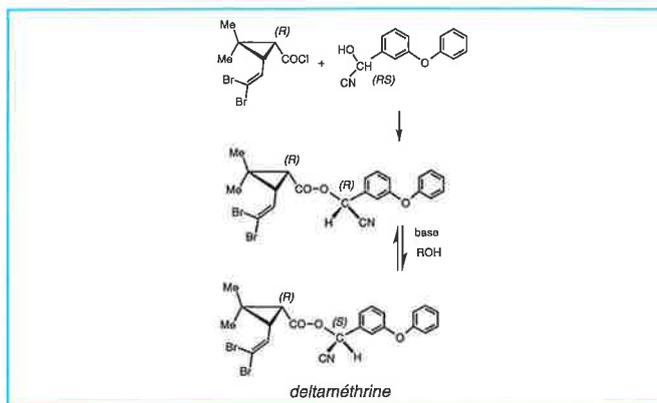


Figure 4 - Transformation asymétrique de diastéréoisomères covalents : l'exemple de la deltaméthrine de Roussel Uclaf.

Il est maintenant bien compris que la séparation par cristallisation de diastéréoisomères ne peut être pratiquée de façon rationnelle que par le biais de l'étude des diagrammes de phases (figure 5). Seuls les systèmes présentant un eutectique suffisamment excentré et dépourvus de solutions solides terminales sont acceptables. Ils ne représentent cependant que 20 à 25 % des cas, d'où la nécessité de savoir les identifier à coup sûr. Les composés d'addition ne sont pas séparables, et les solutions solides, assez fréquentes, ne peuvent être séparées que très difficilement par la technique de "cristallisation fractionnée", qu'il ne faut pas confondre avec la technique usuelle de cristallisation (ou recristallisation) qui permet de séparer les eutectiques.

C'est sans doute la fréquence relativement grande des solutions solides entre diastéréoisomères qui est responsable de la mauvaise image du dédoublement traditionnel. Les solutions solides sont à l'origine de la plupart des difficultés que peuvent rencontrer ceux qui ne pratiquent le dédoublement qu'occasionnellement, et qui ne sont généralement pas en mesure de poser le bon diagnostic. La cristallisation fractionnée de solutions solides est un processus long et fastidieux qu'il convient

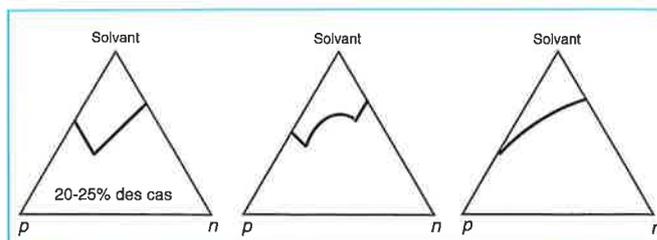


Figure 5 - Les diagrammes de phases, clés des dédoublements classiques. Seul le diagramme de gauche (eutectique) présente un intérêt pratique.

d'éviter, sauf dans les cas désespérés, pour lesquels aucune alternative n'a été trouvée. Le dédoublement de l'acide bromochlorofluoroacétique par séparation de ses sels de strychnine en fournit un exemple. La méthode de simples recrystallisations en fournit un exemple. La méthode de simples recrystallisations successives initialement utilisée par Doyle et Vogl [6] a été récemment reprise à l'ENS de Lyon pour aboutir à un procédé de cristallisations fractionnées dont une partie est décrite *figure 6*. Ce travail de romain [7] a permis l'obtention de diastéréoisomères suffisamment purs pour être analysés par rayons X, fournissant ainsi la configuration absolue de l'acide bromochlorofluoroacétique[8].

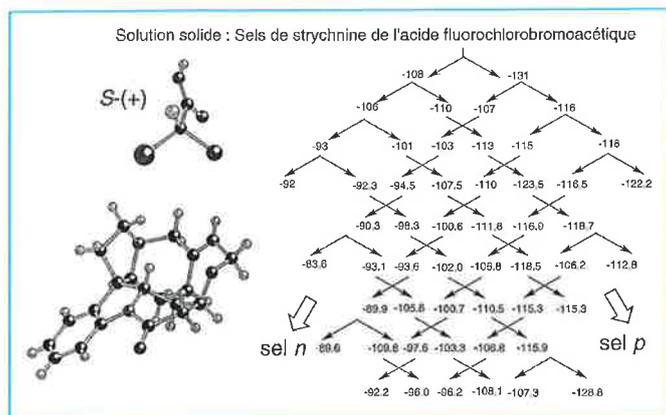


Figure 6 - La cristallisation fractionnée permet de séparer les diastéréoisomères formant des solutions solide (cas des sels de strychnine de l'acide bromochlorofluoroacétique). Il s'agit d'une technique complexe que l'on utilise en dernier recours dans les cas désespérés.

La sélection du bon agent de dédoublement reste encore aujourd'hui l'étape la moins prévisible d'un dédoublement. Grâce aux études menées par J.-Jacques et ses élèves, il a cependant été possible de définir, dans le cas des sels, un protocole systématisé pour la sélection des auxiliaires chiraux conduisant à des systèmes de diastéréoisomères à eutectique. Ce protocole présente l'intérêt de donner rapidement une réponse - positive ou négative - sur la faisabilité d'un dédoublement par diastéréoisomères. En cas de réponse positive, la construction des diagrammes de phases permet de définir très facilement les conditions optimales du procédé de séparation, qui ne doit normalement pas comporter plus d'une ou deux cristallisations [9]. Dans le diagramme de la *figure 7*, c'est le mélange de composition F qui permet d'obtenir ce résultat.

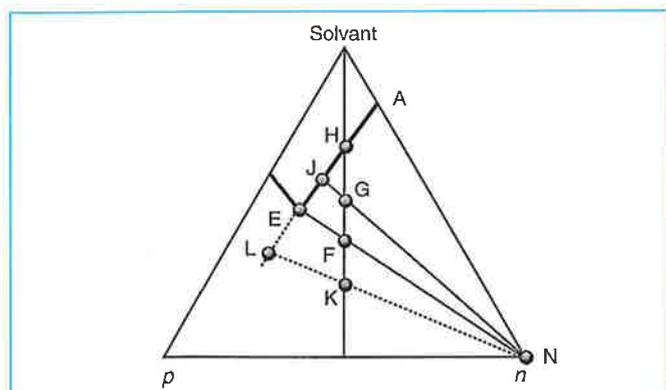


Figure 7 - Dans ce diagramme ternaire à eutectique, seuls les mélanges de composition comprise entre F et H permettent d'obtenir par cristallisation le diastéréoisomère n pur à partir du mélange 1:1. Le rendement maximum est obtenu avec le mélange F.

Cristallisation directe du racémique

D'une manière paradoxale, la première méthode de Pasteur, le dédoublement par cristallisation directe du racémique, est encore aujourd'hui très mal connue, sans doute en raison de l'image un peu désuète du tri manuel des cristaux droits et gauche de racémate de sodium et d'ammonium qui lui est souvent associée. On sait que ce type de dédoublement concerne les racémiques existant sous forme de conglomérat d'énantiomères (*figure 8*), qui ne représentent que 5 à 10 % des cas. Cette fréquence qui peut paraître faible signifie cependant qu'il existe, en fait, un très grand nombre de cas de conglomérats et que, quand on en cherche, on finit presque toujours par en trouver ; on en connaît aujourd'hui plusieurs centaines. C'est ainsi que beaucoup de substances présentant un intérêt pharmaceutique ou économique, et qui ne sont pas elles-mêmes des conglomérats, possèdent des dérivés qui présentent cette propriété. La *figure 8* en fournit une liste très loin d'être exhaustive.

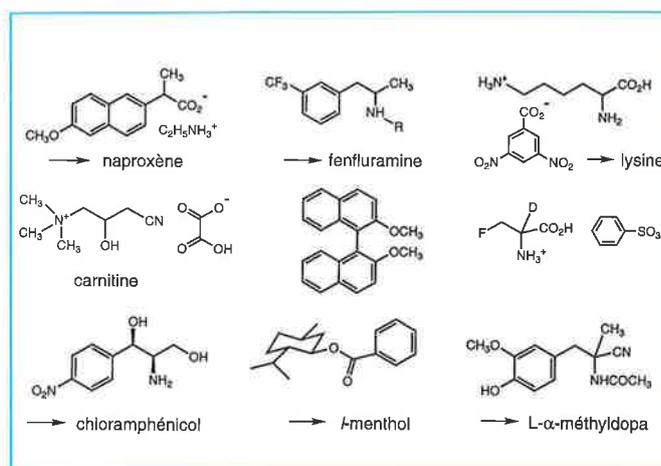


Figure 8 - Quelques dérivés de substances d'intérêt pharmaceutique formant des conglomérats.

Il existe essentiellement deux types de procédés permettant la séparation des énantiomères d'un conglomérat dans une perspective réellement préparative y compris à l'échelle industrielle. Le premier consiste à faire cristalliser simultanément les deux énantiomères dans des enceintes séparées dans lesquelles circule une solution racémique légèrement sursaturée. Cette technologie est utilisée dans des unités spécialement conçues pour la production à long terme d'un produit. C'est le cas du procédé Harmann et Reimer de production du (-)-menthol (via le benzoate de menthyle) et de celui utilisé par Merck pour la production de la L- α -méthyl dopa (*figure 9*). Dans les deux cas, l'énantiomère non désiré est racémisé et recyclé. Des installations de ce type peuvent avoir des capacités de production de quelques centaines de tonnes ou plus par an.

Le second type de procédé consiste à faire cristalliser alternativement les deux énantiomères au sein d'une solution sursaturée du racémique (dédoublement par entraînement). Il a, en particulier, été longtemps pratiqué par Roussel Uclaf pour la production d'un intermédiaire du chloramphénicol (*figure 10*). Le dédoublement était mis en œuvre dans un réacteur de 3 m³ et comportait une vingtaine de cycles aboutissant à envi-

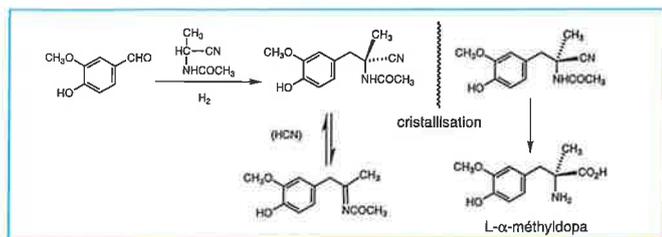


Figure 9 - Procédé Merck pour la production de la L- α -métylidopa. L'amidonitrile intermédiaire préparé à partir de la vanilline est un conglomérat. L'énantiomère non désiré de cet intermédiaire est racémisé en présence de HCN.

ron 500 kg de chaque énantiomère, pour une production annuelle de 35-40 tonnes de l'isomère désiré.

Le dédoublement par entraînement présente plusieurs avantages. Il ne nécessite pas d'appareillage ni d'installations spécifiques, et peut se pratiquer aussi bien à l'échelle du laboratoire, pour préparer des dizaines ou des centaines de grammes d'énantiomères, que dans l'industrie pour la préparation de centaines de kg ou de dizaines de tonnes, voire plus. Ici encore, l'utilisation des diagrammes de phases, avec l'appui de logiciels spécialisés, permet la mise au point de tels procédés dans des délais très brefs, sans commune mesure avec ceux requis pour la synthèse asymétrique ou les méthodes biologiques.

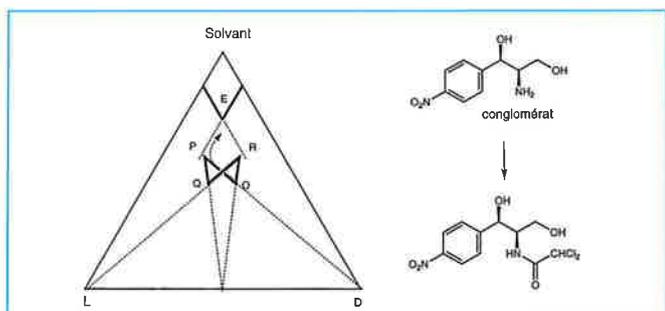


Figure 10 - Dédoublement par entraînement d'un précurseur du chloramphénicol (Roussel Uclaf). Le diagramme de phase permet de visualiser les cycles alternés de cristallisation du D (de O à P et du L (de Q à R). Les segments PQ et RO correspondent à l'addition du racémique.

Le procédé idéal, en matière de dédoublement, est peut-être celui où la cristallisation d'un énantiomère pur à partir du racémique est accompagnée de la racémisation catalysée du produit dans la solution (transformation asymétrique d'énantiomères). Bien qu'il existe dans la littérature et dans les brevets de nombreux exemples de tels procédés - on peut citer les cas de l' α -amino- ϵ -caprolactame et du naproxène - il ne semble pas encore y avoir d'applications industrielles bien établies. Il est vrai que la mise en œuvre de ce type de transformation asymétrique nécessite à la fois la maîtrise des équilibres entre phases et des cinétiques de cristallisation qui permettent le dédoublement par entraînement, et celle de la cinétique de racémisation en phase liquide.

En conclusion, si le dédoublement "artisanal" tel qu'il pouvait être pratiqué depuis Pasteur jusqu'à une époque encore relativement proche n'a plus guère d'avenir, ce n'est pas le cas de ses évolutions actuelles qui présentent un caractère de rigueur et de rationalité au moins égal à celui des méthodes concurrentes, qu'elles soient chimiques ou biologiques. On peut affirmer sans grand risque de se tromper qu'au moins, dans un avenir prévisible,

le dédoublement par cristallisation restera l'une des voies principales d'accès aux substances énantiopures, en particulier dans l'industrie [10]. Les raisons en sont assez facile à établir : (i) sauf rares exceptions, la synthèse d'un racémique est le plus souvent moins chère que la synthèse asymétrique ou stéréosélective d'un énantiomère ; (ii) un dédoublement par cristallisation peut généralement être mis au point dans des délais très brefs, surtout dans le cas de sels diastéréoisomères ou dans celui du dédoublement par entraînement ; (iii) il n'implique que des technologies simples et faciles à maîtriser. A l'inverse, il existe des cas où le dédoublement par cristallisation ne s'applique pas ou ne marche pas ; il s'agit le plus souvent de composés ne donnant pas de dérivés cristallisables, ou dont la chiralité résulte de la présence de groupes peu différents (Cl / Br / Me...) et qui conduisent facilement à la formation de solutions solides entre diastéréoisomères ou entre énantiomères. Il peut également exister des cas où une synthèse asymétrique est potentiellement supérieure à un dédoublement : certains procédés récents d'époxydation et de dihydroxylation asymétrique, tout comme l'hydrogénation asymétrique en offrent des exemples convaincants, dans la mesure où les produits de départ et les catalyseurs requis ne sont pas eux mêmes trop coûteux - voir le cas du naproxène cité plus haut. D'une façon générale, l'élaboration d'une stratégie d'accès à une substance énantiopure nécessite une étude cas par cas qui doit considérer l'ensemble des solutions possibles, le dédoublement par cristallisation étant l'une d'entre elles ; le rejeter a priori est une erreur qui peut coûter très cher !

Quoi qu'il en soit, de nombreuses questions fondamentales restent à éclaircir concernant les relations pouvant exister entre la structure moléculaire et les propriétés cristallines, et les facteurs qui gouvernent les équilibres de phases dans les systèmes d'énantiomères et de diastéréoisomères. Ces questions peuvent aujourd'hui être abordées avec un état d'esprit nouveau, et bénéficier des connaissances rassemblées au cours de la dernière période dans l'étude des interactions moléculaires et des phénomènes de reconnaissance et d'organisation qui se produisent dans les systèmes complexes. Comme on le voit, le travail commencé avec Pasteur est encore loin d'être achevé.

Références

- [1] Voir : *Chirality in Industry*, édité par A. N. Collins, G. N. Shel-drake et J. Crosby, J. Wiley & Sons, **1992**, p. 20.
- [2] Leclercq M., Jacques J., *Nouv. J. Chim.*, **1979**, 3, p. 629.
- [3] Jacques J., Collet A., Wilen S.H., *Enantiomers, Racemates, and Resolutions*, J. Wiley & Sons, New York, **1981**. Réimpression, 1991 et réédition avec corrections, Krieger, Malabar, Florida **1994** (447 pages).
- [4] Voir notamment : *Le Monde*, 13 avril **1990**.
- [5] Collet A., à paraître.
- [6] Doyle T.R., Vogl O., *J. Am. Chem. Soc.*, **1989**, 111, p. 8510.
- [7] Thèse de doctorat de Jeanne Costante (ENS Lyon), **1996**.
- [8] Costante J., Lecocq S., Perrin M., Collet A., à paraître.
- [9] Voir référence [2] et : Collet A., *Optical resolution par crystallization methods*, in *Optical resolution by HPLC*, édité par A. M. Krstulovic, Ellis Horwood Ltd., Chichester **1989**, chapitre 4 ; Collet A., *Optical resolution*, in *Comprehensive supramolecular chemistry*, vol. 10, édité par D. N. Reinhoudt, Pergamon Press, Oxford, **1995**.
- [10] Selon *Chirality in Industry*, [réf 1, p. 399] "Crystallization phenomena will continue to provide the keystones in many efficient processes".

NDLR : Les sous-titres ont été introduits par la rédaction.