

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 380 408**

51 Int. Cl.:
C07D 493/10 (2006.01)
C07H 15/18 (2006.01)
A61K 31/357 (2006.01)
A61P 3/10 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- 96 Número de solicitud europea: **09786960 .6**
96 Fecha de presentación: **17.08.2009**
97 Número de publicación de la solicitud: **2334687**
97 Fecha de publicación de la solicitud: **22.06.2011**

54 Título: **Derivados de dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol**

30 Prioridad:
28.08.2008 US 92470 P
21.07.2009 US 227212 P

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
11.05.2012

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
11.05.2012

73 Titular/es:
Pfizer Inc.
235 East 42nd Street
New York, NY 10017, US

72 Inventor/es:
MASCITTI, Vincent y
COLLMAN, Benjamin, Micah

74 Agente/Representante:
Carpintero López, Mario

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre concesión de Patentes Europeas).

ES 2 380 408 T3

DESCRIPCIÓN

Derivados de dioxo-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol

Campo de la invención

La presente invención se refiere a derivados de dioxo-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol, estructuras cristalinas, composiciones farmacéuticas y los usos de los mismos como inhibidores del co-transportador de sodio-glucosa (SGLT).

Antecedentes

La obesidad es un problema de salud significativo debido a sus complicaciones médicas graves que incluyen co-morbididades tales como hipertensión, resistencia a la insulina, diabetes, arteriopatía coronaria e insuficiencia cardíaca (denominados colectivamente Síndrome Metabólico). La obesidad y sus co-morbididades relacionadas continúan provocando problemas de salud crecientes en el mundo desarrollado y están comenzando a afectar también al mundo en desarrollo. Las consecuencias de salud negativas de la obesidad la hacen la segunda causa de muerte evitable en los Estados Unidos y transmiten un efecto económico y psico-social significativo sobre la sociedad. Véase, McGinnis M, Foege WH., "Actual Causes of Death in the United States," JAMA, 270, 2207-12 (1993). Existe una necesidad de identificar y desarrollar medicaciones nuevas que traten y/o eviten la obesidad y sus co-morbididades asociadas, en particular diabetes de tipo II (tipo 2).

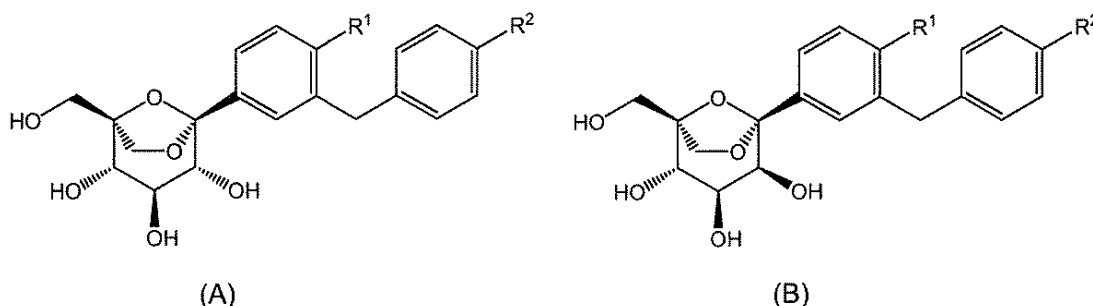
Más recientemente, los inhibidores del co-transporte de sodio-glucosa (SGLT), particularmente inhibidores de SGLT2, han demostrado que bloquean la reabsorción de glucosa a partir del filtrado renal en los glomérulos induciendo, de ese modo, la excreción de glucosa en la orina. A medida que se excreta exceso de glucosa, existe una disminución en el nivel de glucosa en sangre, almacenamiento hepático de glucosa disminuido, secreción de insulina disminuida y, posteriormente, conversión de carbohidratos en grasa disminuida y, en última instancia, grasa acumulada reducida. La inhibición selectiva de SGLT2 se espera que normalice la glucosa en plasma mejorando la excreción de glucosa. En consecuencia, los inhibidores de SGLT2 proporcionan un medio atractivo para el mejoramiento de afecciones diabéticas sin aumentar el peso corporal o el riesgo de hipoglicemia. Véase, Isaji, M., Current Opinion Investigational Drugs, 8(4), 285-292 (2007). Para una revisión general de SGLT como una diana terapéutica, véase también Asano, T., y cols., Drugs of the Future, 29(5), 461-466 (2004).

Los ejemplos representativos de glucósidos que han demostrado ser útiles para el tratamiento de DMNDI y obesidad se pueden encontrar en las siguientes descripciones: Patentes de Estados Unidos N.ºs: 6.515.117; 6.414.126; 7.101.856; 7.169.761 y 7.202.350; Publicaciones de Estados Unidos N.ºs: US2002/0111315; US2002/0137903; US2004/0138439; US2005/0233988; US2006/0025349; US2006/0035841 y US2006/0632722 y Publicaciones PCT N.ºs: WO01/027128; WO02/044192; WO02/088157; WO03/099836; WO04/087727; WO05/021566; WO05/085267; WO06/008038; WO06/002912; WO06/062224; WO07/000445; WO07/093610 y WO08/002824.

Determinados glucósidos son genotóxicos y afectan el material genético de una célula de manera que los mismos pueden ser potencialmente mutagénicos o carcinogénicos. Los materiales genotóxicos se pueden detectar usando ensayos convencionales tales como el Ensayo de Micronúcleos en Células de Mamífero *In Vitro* (Mnvt), Organization for Economic Co-Operation and Development (OECD) Draft Test Guideline (Draft TG) 487 (2007); Ensayo de Aberración Cromosomal en Mamíferos *In Vitro*, OECD TG 473 (1997); Ensayo de Mutación Inversa Bacteriana, OECD TG 471 (1997); Ensayo de Micronúcleos en Eritrocitos de Mamífero, OECD TG 474 (1997); o similares. En consecuencia, todavía existe una necesidad de un tratamiento terapéutico y/o prevención más eficaces y seguros de obesidad y de sus co-morbididades asociadas, en particular, diabetes de Tipo 2 y trastornos relacionados.

Sumario

Se han descubierto compuestos de Fórmula (A) y de Fórmula (B) que actúan como inhibidores del cotransportador de glucosa dependiente de sodio (SGLT), en particular, inhibidores de SGLT2; por lo tanto, pueden usarse en el tratamiento de enfermedades mediadas por dicha inhibición (por ejemplo, enfermedades relacionadas con la obesidad, diabetes de Tipo 2 y co-morbididades relacionadas con la obesidad y relacionadas con la diabetes). Estos compuestos pueden representarse por las Fórmulas (A) y (B) que se muestran a continuación:



en las que R¹ es H, alquilo (C₁-C₄), alcoxi (C₁-C₄), Cl, F, ciano, alquilo (C₁-C₂) fluoro-sustituido, alquil (C₁-C₄)-SO₂- o cicloalquilo (C₃-C₆); y

R² es alquilo (C₁-C₄), alcoxi (C₁-C₄), alquilil (C₂-C₄), 3-oxetanilo, 3-tetrahidrofuranilo, Cl, F, ciano, alquilo (C₁-C₂) fluoro-sustituido, alquil (C₁-C₄)-SO₂-, cicloalquilo (C₃-C₆) o un heterociclo (C₅-C₆) que tiene 1 ó 2 heteroátomos,

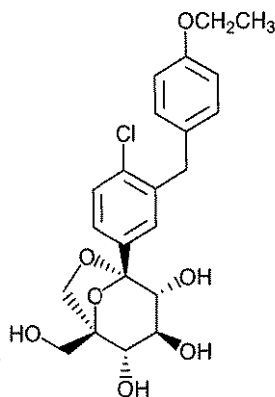
cada uno seleccionado independientemente entre N, O o S.

En general, se entiende por los especialistas en la técnica que pueden añadirse diversos sustituyentes a los compuestos de Fórmula (A) o de Fórmula (B) siempre que el sustituyente o sustituyentes seleccionados no afecten de forma adversa a las características farmacológicas del compuesto ni interfieran de forma adversa con el uso del medicamento.

Los compuestos específicos de Fórmula (A) incluyen: (1S,2S,3S,4R,5S)-1-hidroximetil-5-[3-(4-metoxi-bencil)-4-metil-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol; (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[3-(4-etoxi-bencil)-metil-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol; (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol; (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol; (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-fluoro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol; 2-(4-metoxibencil)-4-((1S,2S,3S,4R,5S)-2,3,4-trihidroxi-1-(hidroximetil)-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-5-il)benzonitrilo; 2-(4-etoxibencil)-4-((1S,2S,3S,4R,5S)-2,3,4-trihidroxi-1-(hidroximetil)-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-5-il)benzonitrilo; (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[3-(4-etoxi-bencil)-4-fluoro-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol; (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[3-(4-clorobencil)-4-fluorofenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol; (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-fluoro-3-[4-(tetrahidro-furan-3-iloxi)-bencil]-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol; y (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-[4-(oxetan-3-iloxi)-bencil]-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol.

Los compuestos específicos de Fórmula (B) incluyen: (1S,2S,3S,4S,5S)-1-hidroximetil-5-[3-(4-metoxi-bencil)-4-metil-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol; (1S,2S,3S,4S,5S)-5-[3-(4-etoxi-bencil)-4-metil-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol; (1S,2S,3S,4S,5S)-5-[4-cloro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol; (1S,2S,3S,4S,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol; (1S,2S,3S,4S,5S)-5-[4-fluoro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol; y (1S,2S,3S,4S,5S)-5-[3-(4-etoxi-bencil)-4-fluoro-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol.

Un aspecto más de la presente invención es un cristal que comprende un compuesto que tiene la fórmula (4A):



(4A).

Otro aspecto de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende (1) un compuesto de la presente invención y (2) un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Preferentemente, la composición comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención. La composición también puede contener al menos un agente farmacéutico adicional (descrito en el presente documento). Los agentes preferidos incluyen agentes anti-obesidad y/o agentes anti-diabéticos (descritos en el presente documento más adelante).

En todavía otro aspecto de la presente invención, se proporciona un uso de los compuestos de la presente invención en un procedimiento para tratar una enfermedad, trastorno o afección modulada por la inhibición de SGLT2 en animales que incluye la etapa de administrar a un animal (preferentemente, un ser humano) que necesita tal tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención (o una composición farmacéutica del mismo). Las enfermedades, afecciones y/o trastornos modulados por la inhibición de SGLT2 incluyen, por ejemplo, diabetes de Tipo 2, nefropatía diabética, síndrome de resistencia a la insulina, hiperglicemia, hiperinsulinemia, hiperlipidemia, tolerancia a la glucosa alterada, obesidad (incluyendo control de peso o mantenimiento de peso), hipertensión y reducir el nivel de glucosa en sangre.

Los compuestos de la presente invención se pueden administrar en combinación con otros agentes farmacéuticos (en particular, agentes anti-obesidad y anti-diabéticos descritos en el presente documento más adelante). La terapia de combinación se puede administrar como (a) una composición farmacéutica única que comprende un compuesto de la presente invención, al menos un agente farmacéutico adicional descrito en el presente documento y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable; o (b) dos composiciones farmacéuticas separadas que comprenden (i) una primera composición que comprende un compuesto de la presente invención y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable y (ii) una segunda composición que comprende al

menos un agente farmacéutico adicional descrito en el presente documento y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Las composiciones farmacéuticas se pueden administrar simultáneamente o secuencialmente y en cualquier orden.

- 5 Se debe apreciar que tanto la descripción general anterior como la descripción detallada siguiente son sólo ilustrativas y explicativas y no son limitantes de la invención, como se ha reivindicado.

Breve descripción de las figuras

La FIGURA 1 representa la estructura cristalina refinada del compuesto del Ejemplo 8A que se ha representado usando el paquete de representación SHELXTL.

- 10 La FIGURA 2 representa la estructura cristalina refinada del compuesto del Ejemplo 9A que se ha representado usando el paquete de representación SHELXTL.

La FIGURA 3 representa un patrón de difracción de rayos X en polvo observado para el Ejemplo 22: Co-cristal de ejemplo 18 del compuesto del Ejemplo 4A y L-prolina.

La FIGURA 4 representa un patrón de difracción de rayos X en polvo observado para el Ejemplo 22: Co-cristal de Ejemplo 20 del compuesto del Ejemplo 4A y ácido L-piroglutámico.

- 15 La FIGURA 5 representa un termograma calorimétrico de exploración diferencial observado para el Ejemplo 23: Co-cristal de Ejemplo 18 del compuesto del Ejemplo 4A y L-prolina.

La FIGURA 6 representa un termograma calorimétrico de exploración diferencial observado para el Ejemplo 23: Co-cristal de Ejemplo 20 del compuesto del Ejemplo 4A y ácido L-piroglutámico.

- 20 La FIGURA 7 representa la estructura cristalina refinada para el Ejemplo 24: Co-cristal del compuesto del Ejemplo 4A y L-prolina que se ha representado usando el paquete de representación SHELXTL.

La FIGURA 8 representa la estructura cristalina refinada del Ejemplo 25: Co-cristal del compuesto del Ejemplo 4A y ácido L-piroglutámico que se ha representado usando el paquete de representación SHELXTL.

- 25 La FIGURA 9 representa un espectro de resonancia magnética nuclear en estado sólido de ^{13}C observado para el Ejemplo 26: Co-cristal del compuesto del Ejemplo 4A y ácido L-piroglutámico. Los picos marcados por asteriscos son bandas laterales giratorias.

Descripción detallada

La presente invención puede entenderse aún más fácilmente tomando como referencia la siguiente descripción detallada de realizaciones ejemplares de la invención y los ejemplos incluidos en ella.

- 30 Antes de que se describan los compuestos, composiciones y procedimientos presentes, debe entenderse que la presente invención no se limita a los procedimientos sintéticos específicos de preparación que por supuesto pueden variar. También debe entenderse que la terminología usada en el presente documento sólo tiene como propósito describir realizaciones particulares y no pretende ser limitante. El plural y el singular deberían tratarse indistintamente, al contrario que la indicación de número:

- 35 Como se usa en el presente documento, el término "alquilo" se refiere a un radical hidrocarburo de fórmula general $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$. El radical alcano puede ser lineal o ramificado. Por ejemplo, el término "alquilo ($\text{C}_1\text{-C}_6$)" se refiere a un grupo alifático, monovalente, lineal o ramificado, que contiene de 1 a 6 átomos de carbono (por ejemplo, metilo, etilo, *n*-propilo, *i*-propilo, *n*-butilo, *i*-butilo, *s*-butilo, *t*-butilo, *n*-pentilo, 1-metilbutilo, 2-metilbutilo, 3-metilbutilo, neopentilo, 3,3-dimetilpropilo, hexilo, 2-metilpentilo y similares). De forma análoga, la porción alquilo (es decir, el resto alquilo) de un grupo alcoxi, acilo (por ejemplo, alcanóilo), alquilamino, dialquilamino, alquilsulfonilo y alquiltio tiene la misma definición que antes. Cuando se indica que está "opcionalmente sustituido", el radical alcano o el resto alquilo puede estar sin sustituir o sustituido con uno o más sustituyentes (en general, de uno a tres sustituyentes, excepto en el caso de sustituyentes halógeno tales como percloro o perfluoroalquilos) seleccionados independientemente entre el grupo de sustituyentes que se indican a continuación en la definición de "sustituido." "Alquilo halo-sustituido" se refiere a un grupo alquilo sustituido con uno o más átomos de halógeno (por ejemplo, fluorometilo, difluorometilo, trifluorometilo, perfluoroetilo, 1,1-difluoroetilo y similares).

- 50 El término "cicloalquilo" se refiere a anillos no aromáticos que están totalmente hidrogenados y pueden existir en forma de un solo anillo, un anillo bicíclico o un anillo espiro. A menos que se especifique otra cosa, el anillo carbocíclico es generalmente un anillo de 3 a 8 miembros. Por ejemplo, cicloalquilo incluye grupos tales como ciclopropilo, ciclobutilo, ciclopentilo, ciclohexilo, ciclohexenilo, norbornilo (biciclo[2.2.1]heptilo), biciclo[2.2.2]octilo y similares.

- 55 El término "heterociclo" se refiere a anillos no aromáticos que están totalmente hidrogenados y pueden existir en forma de un solo anillo, un anillo bicíclico o un anillo espiral. A menos que se especifique otra cosa, el anillo heterocíclico es generalmente un anillo de 3 a 6 miembros que contiene de 1 a 3 heteroátomos (preferentemente 1 ó 2 heteroátomos) seleccionados independientemente entre azufre, oxígeno y/o nitrógeno. Los anillos heterocíclicos incluyen grupos tales como epoxi, aziridinilo, tetrahydrofuranoilo, pirrolidinilo, N-metilpirrolidinilo, piperidinilo, piperazinilo, pirazolidinilo, 4H-piranoilo, morfolino, tiomorfolino, tetrahydrotienilo, 1,1-dióxido de tetrahydrotienilo y similares.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" significa una cantidad de un compuesto de la presente invención que (i) trata la enfermedad, afección o trastorno particular, (ii) atenúa, mejora o elimina uno o más síntomas de la

enfermedad, afección o trastorno particular, o (iii) previene o retrasa el comienzo de uno o más síntomas de la enfermedad, afección o trastorno particular descrito en el presente documento.

El término "animal" se refiere a seres humanos (masculinos o femeninos), animales de compañía (por ejemplo, perros, gatos y caballos), animales que son una fuente alimenticia, animales de zoológico, animales marinos, pájaros y otras especies animales similares. "Animales comestibles" se refiere a animales que son una fuente alimenticia tales como vacas, cerdos, ovejas y aves de corral.

La expresión "farmacéuticamente aceptable" indica que la sustancia o composición debe ser compatible química y/o toxicológicamente con los demás ingredientes que comprende una formulación, y/o con el mamífero que se trate con ella.

Los términos "para tratar", "tratar" o "tratamiento" incluyen tanto tratamiento preventivo, es decir, profiláctico, como paliativo.

Los términos "modulado" o "para modular" o "modula", como se usan en el presente documento, a menos que se indique otra cosa, se refieren a la inhibición del transportador de glucosa dependiente de sodio (en particular, SGLT2) con compuestos de la presente invención, impidiendo por lo tanto de esta manera parcial o completamente el transporte de la glucosa a través del transportador.

El término "compuestos de la presente invención" (a menos que se identifique específicamente otra cosa) se refiere a compuestos de Fórmula (A), de Fórmula (B) y a todos los estereoisómeros puros y mixtos (incluyendo diaestereoisómeros y enantiómeros), tautómeros y compuestos marcados con isótopos. Los hidratos y solvatos de los compuestos de la presente invención se consideran composiciones de la presente invención, donde el compuesto está en asociación con agua o un disolvente, respectivamente. Los compuestos también pueden existir en uno o más estados cristalinos, es decir, en forma de co-cristales, polimorfos, o pueden existir en forma de sólidos amorfos. Todas estas formas se incluyen en las reivindicaciones.

En una realización, R^1 es H, metilo, etilo, propilo, isopropilo, metoxi, etoxi, F, Cl, ciano, $-CF_3$, ciclopropilo, o ciclobutilo. En otra realización, R^1 es H, metilo, etilo, isopropilo, metoxi, etoxi, F, Cl, ciano, $-CF_3$ o ciclopropilo. En una realización más, R^1 es H, metilo, etilo, metoxi, etoxi, F, Cl, ciano, $-CF_3$ o ciclopropilo. En todavía otra realización, R^1 es metilo, etilo, F, Cl, ciano, CF_3 o ciclopropilo.

En una realización, R^2 es metilo, etilo, propilo, isopropilo, metoxi, etoxi, F, Cl, ciano, $-CF_3$, $-CF_2CH_3$, etinilo, 3-oxetanilo, 3-tetrahidrofuranilo o ciclopropilo. En otra realización, R^2 es metilo, etilo, isopropilo, metoxi, etoxi, F, Cl, ciano, $-CF_3$, $-CF_2CH_3$, etinilo, 3-oxetanilo, 3-tetrahidrofuranilo o ciclopropilo. En una realización más, R^2 es metilo, etilo, metoxi, etoxi, F, Cl, ciano, $-CF_3$, $-CF_2CH_3$, etinilo, 3-oxetanilo, 3-tetrahidrofuranilo o ciclopropilo. En otra realización más, R^2 es metoxi o etoxi.

En una realización, el cristal comprende el compuesto 4A y L-prolina o ácido L-pirolutámico.

En una realización más, el cristal tiene uno o más de los siguientes:

a) un grupo espaciador de P2(1)2(1)2(1) y parámetros celulares unitarios sustancialmente iguales a los siguientes:

$a = 7,4907(10) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$.

$b = 12,8626(15) \text{ \AA}$ $\beta = 90^\circ$.

$c = 28,029(4) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$;

b) un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende valores 2-theta de (radiación $CuK\alpha$, longitud de onda de $1,54056 \text{ \AA}$) $6,4 \pm 0,2$, $16,7 \pm 0,2$, $17,4 \pm 0,2$ y $21,1 \pm 0,2$;

c) un espectro de ^{13}C RMN en estado sólido que tiene posiciones de picos a $16,5 \pm 0,2$, $131,1 \pm 0,2$, $158,7 \pm 0,2$ y $181,5 \pm 0,2$ ppm según se determina en un espectrómetro de 500 MHz con respecto a adamantino cristalino de 29,5 ppm; o

d) un termograma de calorimetría de barrido diferencial que tiene una endoterma de aproximadamente $142,5 \pm 2^\circ C$.

En una realización más, el cristal es un co-cristal que comprende el compuesto de fórmula (4A) y ácido L-pirolutámico en una proporción estequiométrica 1:1.

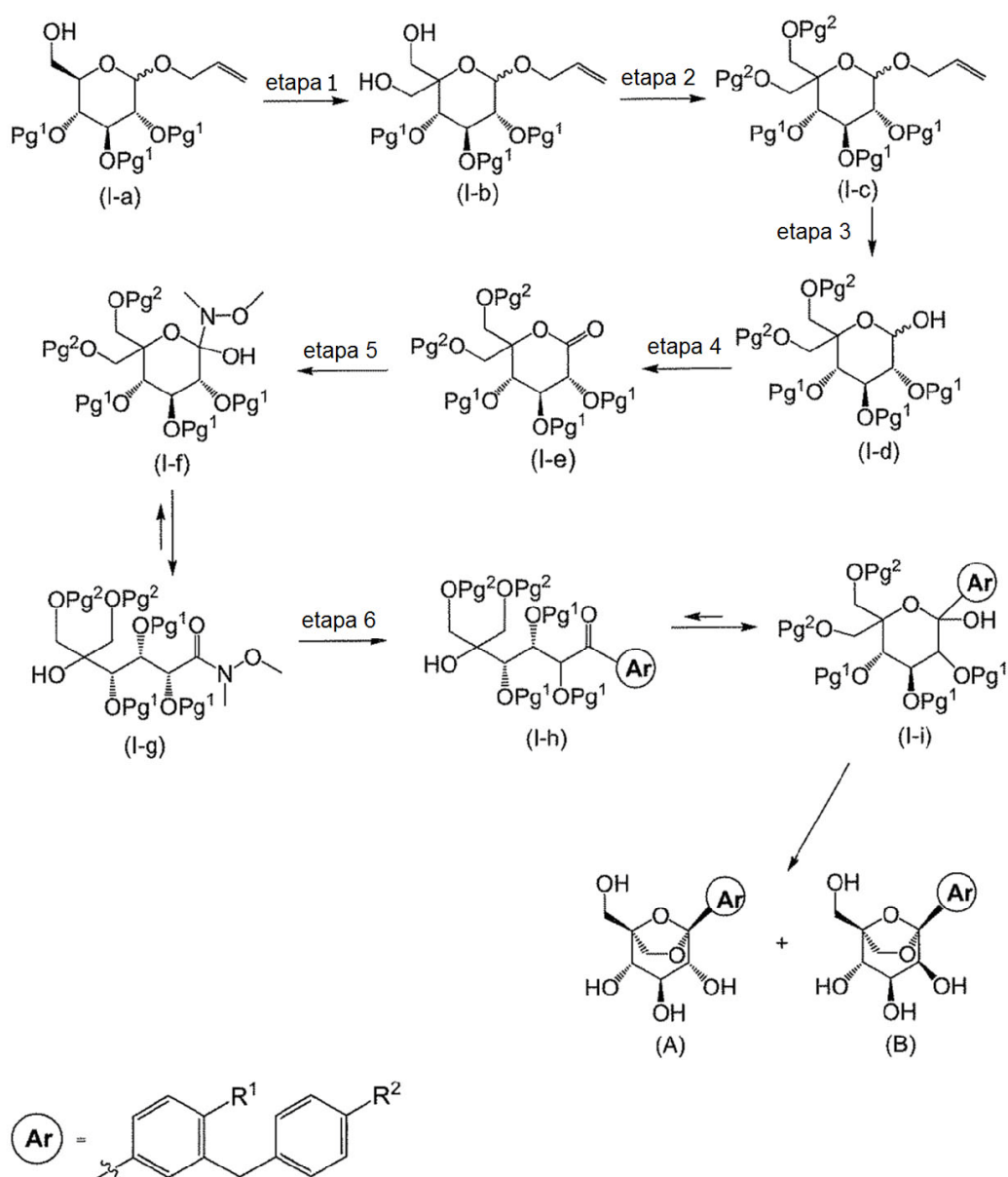
Los compuestos de la presente invención pueden sintetizarse por rutas sintéticas que incluyen procesos análogos a aquellos bien conocidos en las técnicas químicas, particularmente en virtud de la descripción contenida en el presente documento. Los materiales de partida están disponibles generalmente de fuentes comerciales tales como Aldrich Chemicals (Milwaukee, WI) o se preparan fácilmente usando procedimientos bien conocidos por los especialistas en la técnica (por ejemplo, se preparan por procedimientos descritos en Louis F. Fieser and Mary Fieser, Reagents for Organic Synthesis, v. 1-19, Wiley, Nueva York (1967-1999 ed.), o Beilsteins Handbuch der organischen Chemie, 4, Aufl. ed. Springer-Verlag, Berlin, incluyendo los suplementos (también disponibles a través de la base de datos en-línea Beilstein)).

Para propósitos ilustrativos, los esquemas de reacción que se representan más adelante proporcionan rutas potenciales para sintetizar los compuestos de la presente invención así como intermedios clave. Para una descripción más detallada de las etapas de reacción individuales, véase la sección de Ejemplos más adelante.

Aquellos especialistas en la técnica apreciarán que pueden usarse otras rutas sintéticas para sintetizar los compuestos de la invención. Aunque se representan materiales de partida y reactivos específicos en los esquemas y se analizan a continuación, pueden sustituirse fácilmente otros materiales de partida y reactivos para proporcionar una diversidad de derivados y/o condiciones de reacción. Además, muchos de los compuestos preparados por los procedimientos que se describen más adelante pueden modificarse adicionalmente en virtud de esta descripción usando química convencional bien conocida por los especialistas en la técnica.

En la preparación de compuestos de la presente invención, puede ser necesaria la protección de una funcionalidad remota de intermedios. La necesidad de dicha protección variará dependiendo de la naturaleza de la funcionalidad remota y de las condiciones de los procedimientos de preparación. Un "grupo protector de hidroxilo" se refiere a un sustituyente de un grupo hidroxilo que bloquea o protege la funcionalidad hidroxilo. Los grupos protectores de hidroxilo adecuados (O-Pg) incluyen, por ejemplo, alilo, acetilo (Ac), sililo (tal como trimetilsililo (TMS) o terc-butildimetilsililo (TBS)), bencilo (Bn), *para*-metoxibencilo (PMB), tritilo (Tr), *para*-bromobencilo, *para*-nitrobencilo y similares (bencilideno para la protección de 1,3-dioles). La necesidad de dicha protección se determina fácilmente por un especialista en la técnica. Para una descripción general de grupos protectores y su uso, véase T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, Nueva York, 1991.

El Esquema 1 muestra los procedimientos generales que pueden usarse para proporcionar compuestos de la presente invención.



Esquema 1

Puede prepararse 2,3,4-tri-O-bencil-D-glucopiranosido (I-a, donde Pg¹ es un grupo bencilo) por los procedimientos descritos por Shinya Hanashima, y cols., en Bioorganic & Medicinal Chemistry, 9, 367 (2001); Patricia A. Gent y

cols., en Journal of the Chemical Society, Perkin 11835 (1974); Hans Peter Wessei en el Journal of Carbohydrate Chemistry, 7, 263, (1988); o Yoko Yuasa, y cols., en Organic Process Research & Development, 8,405-407 (2004). En la etapa 1 del Esquema 1, el grupo hidroximetileno puede introducirse en el glicósido por medio de una oxidación de Swern seguida de tratamiento con formaldehído en presencia de un hidróxido de metal alcalino (por ejemplo, hidróxido sódico). Esto se denomina una reacción de Cannizzaro de aldol. La oxidación de Swern se describe por Kanji Omura y Daniel Swern en Tetrahedron, 34, 1651 (1978). También pueden usarse modificaciones de este procedimiento conocidas por los especialistas en la técnica. Por ejemplo, pueden usarse otros oxidantes, tales como ácido 2-yodooxibenzóico estabilizado descrito por Ozanne, A. y cols. en Organic Letters, 5, 2903 (2003), así como otros oxidantes conocidos por los especialistas en la técnica. La secuencia de Cannizzaro de aldol se ha descrito por Robert Schaffer en el Journal of The American Chemical Society, 81, 5452 (1959) y Amigues, E.J., y cols., en Tetrahedron, 63, 10042 (2007).

En la etapa 2 del Esquema 1, pueden añadirse grupos protectores (Pg^2) por tratamiento del intermedio (I-b) con los reactivos y procedimientos apropiados para el grupo protector particular deseado. Por ejemplo, pueden introducirse grupos *p*-metoxibencilo (PMB) por tratamiento del intermedio (I-b) con bromuro *p*-metoxibencilo o cloruro de *p*-metoxibencilo en presencia de hidruro sódico, hidruro potásico, *tert*-butóxido potásico en un disolvente tal como tetrahidrofurano, 1,2-dimetoxietano o *N,N*-dimetilformamida (DMF). También pueden usarse condiciones que implican tricloroacetimidato de *para*-metoxibencilo en presencia de una cantidad catalítica de ácido (por ejemplo, ácido trifluorometanosulfónico, ácido metanosulfónico o ácido canforsulfónico) en un disolvente tal como diclorometano, heptano o hexanos. Pueden introducirse grupos bencilo (Bn) por tratamiento del intermedio (I-b) con bromuro de bencilo o cloruro de bencilo en presencia de hidruro sódico, hidruro potásico, *tert*-butóxido potásico en un disolvente tal como tetrahidrofurano, 1,2-dimetoxietano o *N,N*-dimetilformamida. También pueden usarse condiciones que implican tricloroacetimidato de bencilo en presencia de una cantidad catalítica de ácido (por ejemplo, ácido trifluorometanosulfónico, ácido metanosulfónico o ácido canforsulfónico) en un disolvente tal como diclorometano, heptano o hexanos.

En la etapa 3 del Esquema 1, se retira el grupo protector de alilo (por ejemplo, por tratamiento con cloruro de paladio en metanol; puede usarse un codisolvente tal como diclorometano; también pueden usarse otras condiciones conocidas por los especialistas en la técnica, véase T. W. Greene, Protective Groups in Organic Synthesis, John Wiley & Sons, Nueva York, 1991) para formar el lactol (I-d).

En la etapa 4 del Esquema 1, la oxidación del grupo hidroxilo no protegido para dar un grupo oxo (por ejemplo, oxidación de Swern) forma después la lactona (I-e).

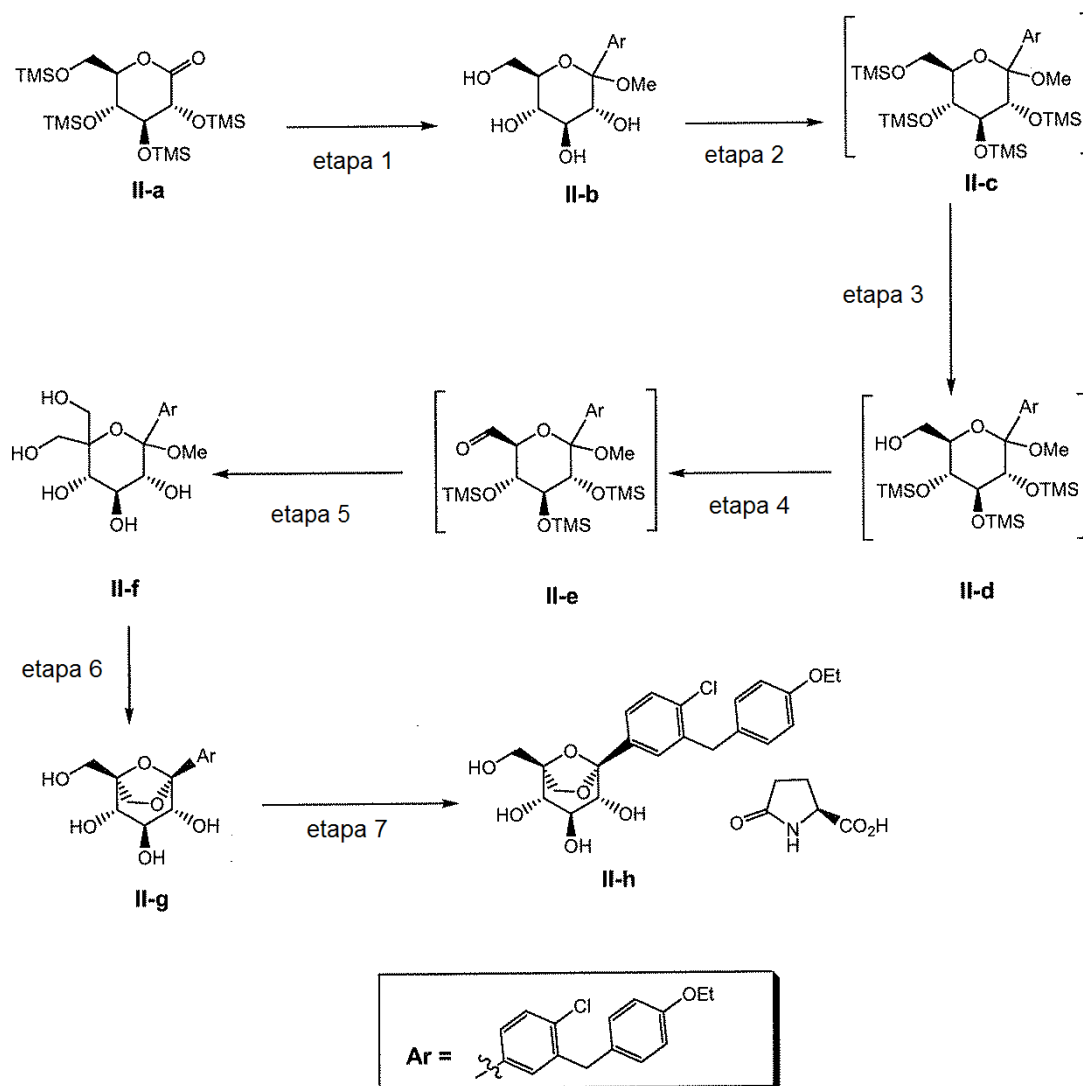
En la etapa 5 del Esquema 1, la lactona (I-e) se hace reaccionar con clorhidrato de *N,O*-dimetilhidroxilamina para formar la amida de Weinreb correspondiente que puede existir en equilibrio en una forma cerrada/abierta, (I-f/I-g). La "amida de Weinreb" (I-g) puede prepararse usando procedimientos bien conocidos por los especialistas en la técnica. Véase Nahm, S., y S.M. Weinreb, *Tetrahedron Letters*, 22 (39), 3815-1818 (1981). Por ejemplo, el intermedio (I-f/I-g) puede prepararse a partir del clorhidrato de *N,O*-dimetilhidroxilamina disponible en el mercado y un agente de activación (por ejemplo, trimetilaluminio).

En la etapa 6 del Esquema 1, se introduce el grupo arilbencilo (Ar) usando el reactivo organometálico deseado (por ejemplo, compuesto de organolitio ($ArLi$) o compuesto de organomagnesio ($ArMgX$)) en tetrahidrofurano (THF) a una temperatura que varía de aproximadamente $-78^\circ C$ a aproximadamente $20^\circ C$ seguido de hidrólisis (después de un periodo de reposo en condiciones próticas), dando el lactol correspondiente (I-i) que puede estar en equilibrio con la cetona correspondiente (I-h). El motivo de cetol enlazado que se encuentra en (A) y (B) puede prepararse retirando los grupos protectores (Pg^2) usando los reactivos apropiados para los grupos protectores empleados. Por ejemplo, los grupos protectores de PMB pueden retirarse por tratamiento con ácido trifluoroacético en presencia de anisol y diclorometano (DCM) de aproximadamente $0^\circ C$ a aproximadamente $23^\circ C$ (temperatura ambiente). Los grupos protectores restantes (Pg^1) pueden retirarse después usando la química apropiada para los grupos protectores particular. Por ejemplo, los grupos protectores de bencilo pueden retirarse por tratamiento con ácido fórmico en presencia de paladio (negro de Pd) en un disolvente prótico (por ejemplo, etanol/THF) aproximadamente a la temperatura ambiente para producir los productos finales (A) y (B). Cuando R^1 es CN, también puede emplearse el uso de un ácido de Lewis tal como tricloruro de boro a una temperatura que varía de aproximadamente $-78^\circ C$ a aproximadamente la temperatura ambiente en un disolvente tal como diclorometano o 1,2-dicloroetano para retirar los grupos bencilo y/o los grupos protectores de *para*-metoxibencilo.

Cuando R^1 es CN y R^2 es alcoxi (C_1-C_4) en el intermedio (I-i) o en los productos (A) o (B), después del tratamiento con un ácido de Lewis tal como tricloruro de boro o tribromuro de boro, puede producirse la desalquilación de parcial a completa para dar el fenol correspondiente y conducir al compuesto (A) o (B) correspondiente en el que R^1 es CN y R^2 es OH. Si esto se produce, el grupo alcoxi (C_1-C_4) puede introducirse de nuevo por alquilación selectiva usando un yoduro de alquilo (C_1-C_4) en condiciones moderadamente básicas, por ejemplo, carbonato potásico en acetona a una temperatura que varía de aproximadamente la temperatura ambiente a aproximadamente 56 grados Celsius.

Cuando R^1 y/o R^2 es alquil (C_1-C_4)- SO_2 -, se entiende por un especialista en la técnica que la etapa de adición organometálica 6 (Esquema 1) se realizará sobre el reactivo organometálico correspondiente que contiene alquil (C_1-C_4)-S-. Después, el tio-alquilo se oxida en la última etapa para dar la sulfona correspondiente usando procedimientos convencionales conocidos por los especialistas en la técnica.

Los compuestos de la presente invención pueden prepararse en forma de co-cristales usando cualquier procedimiento adecuado. Un esquema representativo para preparar dichos co-cristales se describe en el Esquema 2.



Esquema 2

En el Esquema 2, en el que Me es metilo y Et es etilo, en la etapa 1, se disuelve 1-(5-bromo-2-clorobencil)-4-etoxibenceno en 3:1 de tolueno:tetrahidrofurano seguido de refrigeración de la solución resultante a $<-70^{\circ}\text{C}$. A esta solución se le añade hexilitio mientras se mantiene la reacción a $\leq 65^{\circ}\text{C}$ seguido de agitación durante 1 hora. Se disuelve (3R,4S,5R,6R)-3,4,5-tris(trimetilsililo)-6-((trimetilsililo)metil)-tetrahidropiran-2-ona (II-a) en tolueno y la solución resultante se enfría a -15°C . Después, esta solución se añade a la solución de arillio a -70°C seguido de agitación durante 1 hora. Después se añade una solución de ácido metanosulfónico en metanol seguido de calentamiento a temperatura ambiente y agitación durante 16 a 24 horas. Se determina que la reacción se ha completado cuando el nivel de α -anómero es $\leq 3\%$. Después la reacción se basicifica mediante la adición de una solución acuosa 5 M de hidróxido sódico. Las sales resultantes se retiran por filtración seguida de concentración de la solución del producto en bruto. Se añade 2-metiltetrahidrofurano como co-disolvente y la fase orgánica se extrae dos veces con agua. Después la fase orgánica se concentra hasta 4 volúmenes en tolueno. Después este concentrado se añade a una solución 5:1 de heptano:tolueno provocando la formación del precipitado. Los sólidos se recogen y se secan al vacío para proporcionar un sólido.

En la etapa 2 del Esquema 2, a (II-b) en cloruro de metileno se añade imidazol seguido de refrigeración a 0°C y después adición de cloruro de trimetilsililo para dar el producto persililato. La reacción se calienta a temperatura ambiente, se interrumpe mediante la adición de agua y la fase orgánica se lava con agua. Esta solución de cloruro de metileno en bruto de (II-c) se seca sobre sulfato sódico y después se recoge en bruto en la siguiente etapa.

En la etapa 3 del Esquema 2, la solución en bruto de (II-c) en cloruro de metileno se concentra a bajo volumen y después el disolvente se intercambia por metanol. La solución en metanol de (II-c) se enfría a 0°C y después se añade 1% en mol de carbonato potásico en forma de una solución en metanol seguido de agitación durante 5 horas. Después, la reacción se interrumpe mediante la adición de 1% en mol de ácido acético en metanol, seguido de calentamiento a temperatura ambiente, intercambio del disolvente por acetato de etilo y después filtración de la cantidad minoritaria de sólidos inorgánicos. La solución de acetato de etilo en bruto de (II-d) se recoge directamente en la siguiente etapa.

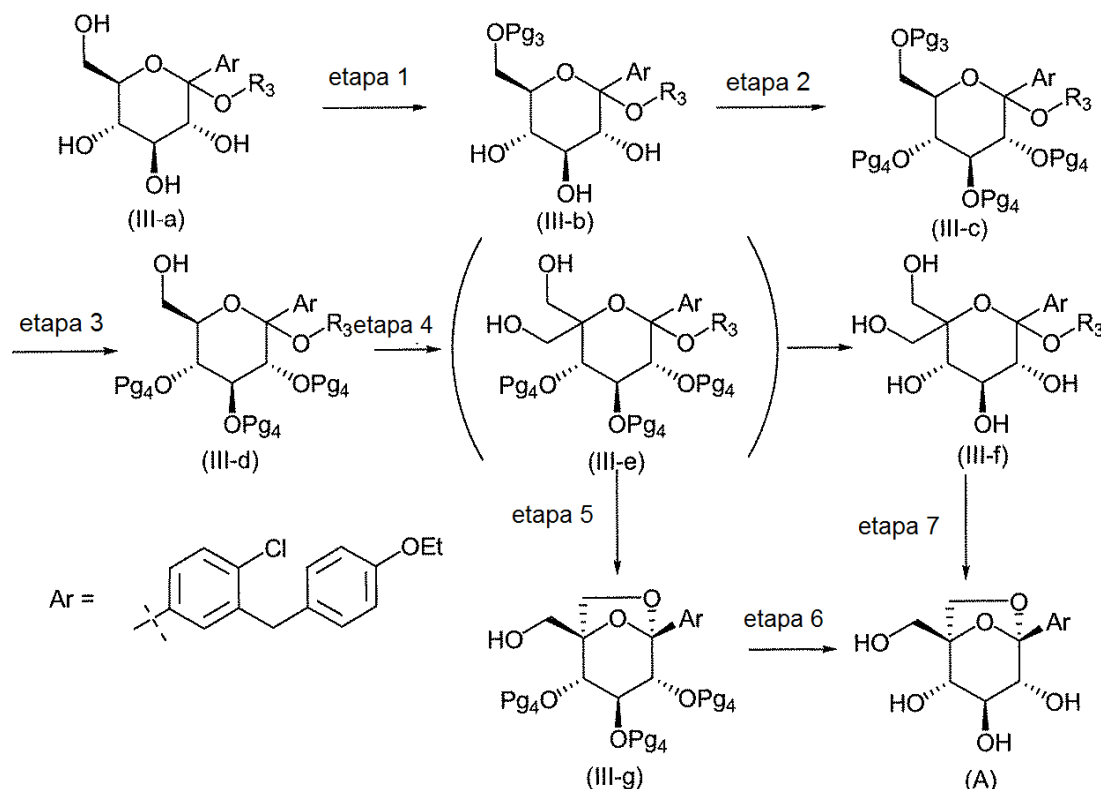
En la etapa 4 del Esquema 2, la solución en bruto de (II-d) se concentra a bajo volumen y después se diluye con cloruro de metileno y dimetilsulfóxido. Se añade trietilamina seguido de refrigeración a 10°C y después se añade en 3 porciones complejo de trióxido de azufre y piridina en forma de un sólido a intervalos de 10 minutos. La reacción se agita durante 3 horas más a 10°C antes de interrumpirse con agua y calentarse a temperatura ambiente. Las fases se separan seguido de lavado de la fase de cloruro de metileno con cloruro de amonio acuoso. La solución de cloruro de metileno en bruto de (II-e) se recoge directamente en la siguiente etapa.

En la etapa 5 del Esquema 2, la solución en bruto de (II-e) se concentra a bajo volumen y después el disolvente se intercambia por etanol. Se añaden treinta equivalentes de formaldehído acuoso seguido de calentamiento a 55°C. Se añade una solución acuosa de 2 equivalentes de fosfato potásico tribásico seguido de agitación durante 24 horas a 55°C. Después, la temperatura de la reacción se aumenta hasta 70°C durante 12 horas más. La reacción se enfría a temperatura ambiente y se diluye con éter metil-*terc*-butílico y salmuera. Las fases se separan seguido de intercambio del disolvente de la fase orgánica por acetato de etilo. La fase de acetato de etilo se lava con salmuera y se concentra a bajo volumen. Después, el concentrado en bruto se purifica por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con metanol al 5%, tolueno al 95%. Las fracciones que contienen el producto se combinan y se concentran a bajo volumen. Se añade metanol seguido de agitación hasta que se produce la precipitación. La suspensión se enfría y los sólidos se recogen y se aclaran con heptano seguido de secado. El producto (II-f) se aísla en forma de un sólido.

En la etapa 6 del Esquema 2, el compuesto (II-f) se disuelve en 5 volúmenes de cloruro de metileno seguido de la adición de 1% en mol de ácido tósico *SiliaBond*® y agitación durante 18 horas a temperatura ambiente. El catalizador ácido se retira por filtración y la solución de cloruro de metileno de (II-g) se recoge directamente en el procedimiento de co-cristalización de la siguiente etapa.

En la etapa 7 del Esquema 2, la solución de cloruro de metileno de (II-g) se concentra y después el disolvente se intercambia por 2-propanol. Se añade agua seguida de calentamiento a 55°C. Se añade una solución acuosa de ácido L-piroglutámico seguido de refrigeración de la solución resultante a temperatura ambiente. Después la solución se siembra y se granula durante 18 horas. Después de un periodo de refrigeración, los sólidos se recogen y se aclaran con heptano seguido de secado. El producto (II-h) se aísla en forma de un sólido.

Una ruta de síntesis alternativa para los compuestos (A) de la presente invención se representa en el Esquema 3 y se describe a continuación.



Esquema 3

La síntesis de (III-a), donde R₃ es un alquilo o alquilo fluoro-sustituido (excepto para el carbono adyacente al átomo de oxígeno) puede prepararse de una manera similar a la descrita en la etapa 1 del Esquema 2. En la etapa 1 del Esquema 3, el grupo hidroxilo primario se protege selectivamente mediante un grupo protector apropiado. Por ejemplo, puede introducirse un grupo tritilo (Pg₃ = Tr) por tratamiento del intermedio (III-a) con clorotriifenilmetano en presencia de una base tal como piridina en un disolvente tal como tolueno, tetrahidrofurano o diclorometano a una temperatura que varía de aproximadamente 0 grados Celsius a aproximadamente la temperatura ambiente.

Ejemplos adicionales de dichos grupos protectores y condiciones experimentales son conocidos por los especialistas en la técnica y pueden encontrarse en T. W. Greene, *Protective Groups in Organic Synthesis*, John Wiley & Sons, Nueva York, 1991.

En la etapa 2 del Esquema 3, los grupos hidroxilo secundarios pueden protegerse mediante los grupos protectores apropiados. Por ejemplo, pueden introducirse grupos bencilo (Pg_4 es Bn) por tratamiento del intermedio (III-b) con bromuro de bencilo o cloruro de bencilo en presencia de hidruro sódico, hidruro potásico o *tert*-butóxido potásico en un disolvente como tetrahidrofurano, 1,2-dimetoxietano o *N,N*-dimetilformamida a una temperatura que varía de aproximadamente 0 grados Celsius a aproximadamente 80 grados Celsius. Pueden introducirse grupos acetilo o benzoilo (Pg_4 = Ac o Bz) por tratamiento del intermedio (III-b) con cloruro de acetilo, bromuro de acetilo o anhídrido acético o cloruro de benzoilo o anhídrido benzoico en presencia de una base tal como trietilamina, *N,N*-diisopropiletilamina o 4-(dimetilamino)piridina en un disolvente como tetrahidrofurano, 1,2-dimetoxietano o diclorometano a una temperatura que varía de aproximadamente 0 grados Celsius a aproximadamente 80 grados Celsius.

En la etapa 3 del Esquema 3, el grupo hidroxilo primario se desprotege para conducir al intermedio (III-d). Cuando Pg_3 es Tr, el intermedio (III-c) se trata en presencia de un ácido como ácido *para*-toluenosulfónico en un disolvente alcohólico tal como metanol a una temperatura que varía de aproximadamente -20° grados Celsius a aproximadamente temperatura ambiente para proporcionar el intermedio (III-d). Pueden usarse codisolventes tales como cloroformo.

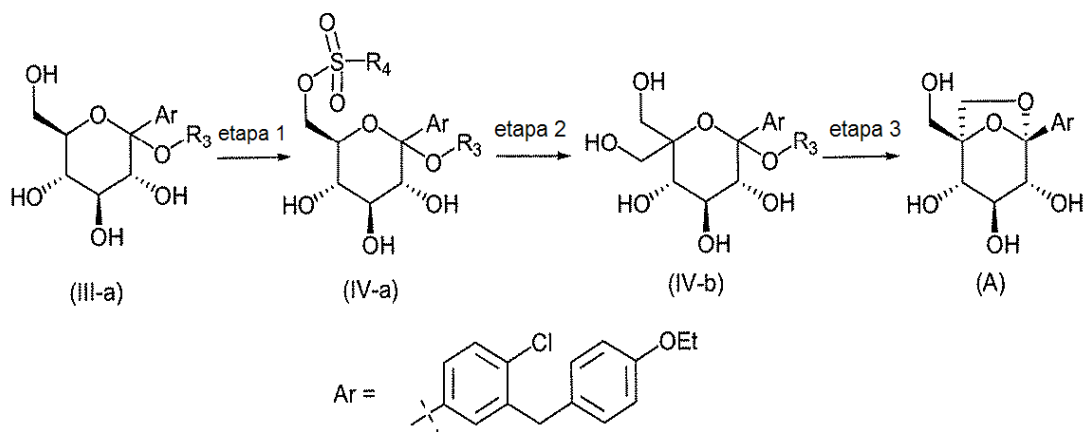
En la etapa 4 del Esquema 3, se introduce un grupo hidroximetileno a través de un procedimiento similar al ya descrito en el Esquema 1 (etapa 1) y Esquema 2 (etapas 4 y 5). También pueden usarse en esta etapa otras fuentes de formaldehído, como paraformaldehído en un disolvente como etanol a una temperatura que varía de aproximadamente temperatura ambiente a aproximadamente 70 grados Celsius en presencia de un alcóxido de metal alcalino. Cuando Pg_4 es Bn, esta etapa proporciona el intermedio (III-e) y cuando Pg_4 es Ac o Bz, esta etapa proporciona el intermedio (III-f).

En la etapa 5 del Esquema 3, el intermedio (III-e) se trata con un ácido como ácido trifluoroacético o una resina ácida en un disolvente como diclorometano a una temperatura que varía de aproximadamente -10 grados Celsius a aproximadamente la temperatura ambiente para producir el intermedio (III-g).

En la etapa 6 del Esquema 3, los grupos protectores restantes (Pg_4) pueden retirarse después usando la química apropiada para los grupos protectores particulares. Por ejemplo, los grupos protectores de bencilo pueden retirarse por tratamiento con ácido fórmico en presencia de paladio (negro de Pd) en un disolvente prótico (por ejemplo, etanol/THF) aproximadamente a la temperatura ambiente para producir el producto final (A).

En la etapa 7 del Esquema 3, el intermedio (III-f) se trata con un ácido tal como ácido trifluoroacético o una resina ácida en un disolvente tal como diclorometano a una temperatura que varía de aproximadamente -10 grados Celsius a aproximadamente la temperatura ambiente para producir el producto final (A).

Otro esquema alternativo para sintetizar el producto (A) se representa en el Esquema 4 y se describe a continuación.



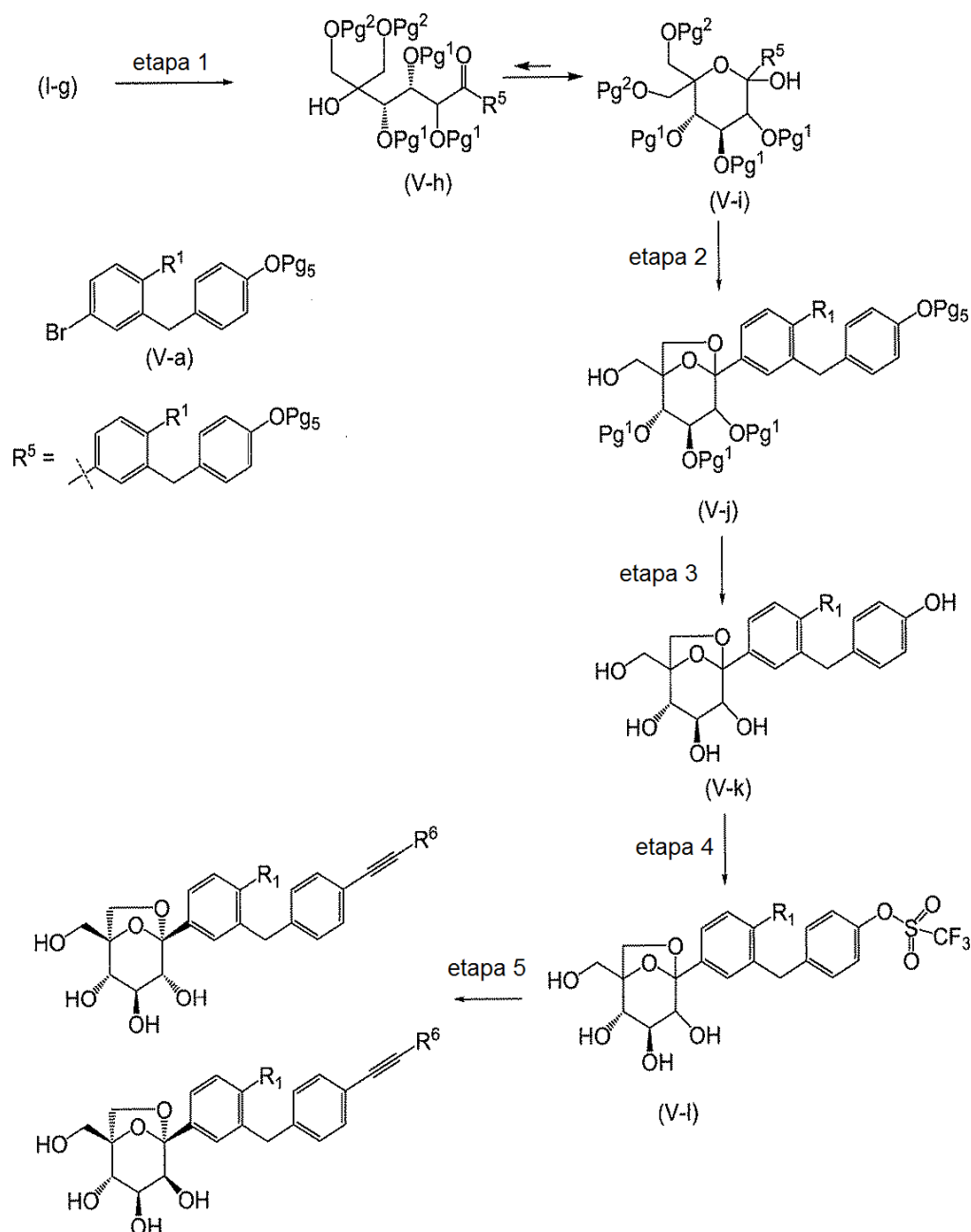
Esquema 4

En la etapa 1 del Esquema 4, intermedio (III-a) se trata con el cloruro de arilsulfonilo R_4SO_2Cl o anhídrido arilsulfónico $R_4S(O)_2OS(O)_2R_4$ apropiado (donde R_4 es un grupo arilo opcionalmente sustituido, tal como se encuentra en los cloruros de arilsulfonilo cloruro de 4-metil-bencenosulfonilo, cloruro de 4-nitro-bencenosulfonilo, cloruro de 4-fluoro-bencenosulfonilo, cloruro de 2,6-dicloro-bencenosulfonilo, cloruro de 4-fluoro-2-metil-bencenosulfonilo y cloruro de 2,4,6-tricloro-bencenosulfonilo, y en el anhídrido arilsulfónico, anhídrido *p*-toluenosulfónico) en presencia de una base tal como piridina, trietilamina, *N,N*-diisopropiletilamina en un disolvente tal como tetrahidrofurano, 2-metiltetrahidrofurano a una temperatura que varía de aproximadamente -20 grados Celsius a aproximadamente la temperatura ambiente. Pueden usarse como aditivos algunos ácidos de Lewis tales como bromuro de cinc (II).

En la etapa 2 del Esquema 4, el intermedio (IV-a) se somete a oxidación de tipo Kornblum (véase, Kornblum, N., y cols., Journal of The American Chemical Society, 81, 4113 (1959)), produciendo el aldehído correspondiente que puede existir en equilibrio con el hidrato y/o forma hemiacetal correspondiente. Por ejemplo, el intermedio (IV-a) se trata en presencia de una base tal como piridina, 2,6-lutidina, 2,4,6-colidina, *N,N*-diisopropiletilamina, 4-(dimetilamino)piridina en un disolvente tal como dimetilsulfóxido a una temperatura que varía de aproximadamente la temperatura ambiente a aproximadamente 150°C. Después, el intermedio de aldehído producido se somete a las condiciones de aldol/Cannizzaro descritas para la etapa 1 (Esquema 1) y la etapa 5 (Esquema 2), produciendo el intermedio (IV-b).

En la etapa 3 del Esquema 4, el intermedio (IV-b) se trata con un ácido tal como ácido trifluoroacético o una resina ácida en un disolvente tal como diclorometano a una temperatura que varía de aproximadamente -10°C a aproximadamente la temperatura ambiente para producir el producto final (A).

Cuando R^2 es alquilino (C_2 - C_4), el procedimiento puede realizarse usando el Esquema 5, en el que R^6 es H o alquilo (C_1 - C_2).



Esquema 5

En la etapa 1 del Esquema 5, que proporciona el intermedio (V-i), la etapa de adición organometálica se realiza de

una manera similar a la descrita en el Esquema 1, etapa 6, usando el reactivo organometálico obtenido a partir de (V-a), donde Pg_5 es un grupo protector adecuado para el grupo hidroxilo. Por ejemplo, Pg_5 puede ser un grupo *terc*-butildimetilsililo (TBS) (véase el documento US2007/0054867 para la preparación de, por ejemplo, {4-[(5-bromo-2-cloro-fenil)-metil]-fenoxi}-*terc*-butil-dimetil-silano).

- 5 En la etapa 2 del Esquema 5, cuando $Pg^2 = PMB$, el intermedio (V-i) se trata con un ácido tal como ácido trifluoroacético, ácido metanosulfónico o una resina ácida en presencia de anisol en un disolvente tal como diclorometano a una temperatura que varía de aproximadamente -10 grados Celsius a aproximadamente la temperatura ambiente para producir el intermedio (V-j).

- 10 En la etapa 3 del Esquema 5, los grupos protectores (Pg_5) y (Pg^1) pueden retirarse para proporcionar (V-k). Típicamente (Pg_5) es TBS y Pg^1 es Bn. En esta circunstancia, los grupos protectores se retiran por tratamiento secuencial de (V-j) con 1) fluoruro de tetrabutilamonio en un disolvente tal como tetrahidrofurano o 2-metiltetrahidrofurano a una temperatura que varía de 0 grados Celsius a aproximadamente 40 grados Celsius y 2) tratamiento con ácido fórmico en presencia de paladio (negro de Pd) en un disolvente prótico (por ejemplo, etanol/THF) aproximadamente a la temperatura ambiente. En esta secuencia, el orden de las 2 reacciones es intercambiable.

En la etapa 4 del Esquema 5, el intermedio (V-k) se trata con N,N-bis-(trifluorometanosulfonyl)-anilina en presencia de una base tal como trietilamina o 4-dimetilaminopiridina en un disolvente tal como diclorometano o 1,2-dicloroetano a una temperatura que varía de 0 grados Celsius a aproximadamente 40 grados Celsius para producir el intermedio (V-l).

- 20 En la etapa 5 del Esquema 5, el intermedio (V-l) se somete a una reacción de tipo Sonogashira (véase, Sonogashira, K. Coupling Reactions Between sp^2 and sp Carbon Centers. En *Comprehensive Organic Synthesis* (eds. Trost, B. M., Fleming, I.), 3, 521-549, (Pergamon, Oxford, 1991)). Por ejemplo, se trata (V-l) con el alquino terminal apropiado $HCCR^6$ en presencia de yoduro de cobre (I), un catalizador tal como dicloruro de bis-(trifenilfosfina)-paladio o tetraquis(trifenilfosfina)paladio (0) en presencia de una base tal como trietilamina o N,N-diisopropiletilamina en un disolvente tal como N,N-dimetilformamida a una temperatura que varía de aproximadamente la temperatura ambiente a aproximadamente 120 grados Celsius para producir los productos deseados (A) y (B). Cuando R^6 es H, es más conveniente usar trimetilsililacetileno. En este caso, el material en bruto obtenido de la reacción descrita anteriormente se trata con una base tal como carbonato potásico en un disolvente alcohólico tal como MeOH aproximadamente a la temperatura ambiente para producir, después del tratamiento clásico conocido por los especialistas en la técnica, los productos deseados (A) y (B) en los que R^2 es -CCH.

Un especialista en la técnica entenderá que la química descrita anteriormente en los esquemas 1 a 5, representa rutas diferentes para acceder al intermedio (V-k). A su vez, particularmente cuando R^1 es Cl, puede tratarse (V-k) con un agente de alquilación de elección en condiciones clásicas para alquilar selectivamente el grupo fenol para producir (A) (y (B) en los esquemas 1 y 5) donde R^2 es alcoxi (C_1-C_4).

- 35 Los compuestos de la presente invención contienen centros asimétricos o quirales, y, por lo tanto, existen en diferentes formas estereoisoméricas. A menos que se especifique otra cosa, se entiende que todas las formas estereoisoméricas de los compuestos de la presente invención así como mezclas de las mismas, incluyendo mezclas racémicas, forman parte de la presente invención. Además, la presente invención incluye todos los isómeros geométricos y posicionales. Por ejemplo, si un compuesto de la presente invención incorpora un doble enlace o un anillo condensado, tanto las formas *cis* como las formas *trans*, así como las mezclas, se incluyen dentro del alcance de la invención.

- Las mezclas diastereoméricas pueden separarse en sus diaestereoisómeros individuales basándose en sus diferencias físico-químicas por procedimientos bien conocidos por los especialistas en la técnica, tal como por cromatografía y/o cristalización fraccionada, destilación, sublimación. Los enantiómeros pueden separarse convirtiendo la mezcla enantiomérica en una mezcla diastereomérica por reacción con un compuesto ópticamente activo apropiado (por ejemplo, un auxiliar quiral tal como un alcohol quiral o cloruro de ácido de Mosher), separando los diaestereoisómeros y convirtiendo (por ejemplo, hidrolizando) los diaestereoisómeros individuales en los enantiómeros puros correspondientes. Además, algunos de los compuestos de la presente invención pueden ser atropisómeros (por ejemplo, biarilos sustituidos) y se consideran parte de la presente invención. Los enantiómeros también pueden separarse mediante el uso de una columna de HPLC (cromatografía líquida a alta presión) quiral.

- También es posible que los intermedios y compuestos de la presente invención puedan existir en diferentes formas tautoméricas, y todas estas formas se incluyen dentro del alcance de la invención. El término "tautómero" o "forma tautomérica" se refiere a isómeros estructurales de diferentes energías que pueden interconvertirse por medio de una barrera de baja energía. Por ejemplo, los tautómeros de protones (también conocidos como tautómeros prototrópicos) incluyen interconversiones a través de la migración de un protón, tal como un ceto-enol e isomerizaciones de imina-enamina. Un ejemplo específico de un tautómero de protones es el resto imidazol en el que el protón puede migrar entre los dos nitrógenos del anillo. Los tautómeros de valencia incluyen interconversiones por reorganización de algunos de los electrones de unión. El equilibrio entre la forma cerrada y abierta de algunos intermedios (y/o mezclas de intermedios) es reminiscente del procedimiento de mutarrotación que implica aldosas, conocido por los especialistas en la técnica.

- La presente invención también incluye compuestos marcados con isótopos de la presente invención que son idénticos a los indicados en el presente documento, pero en los que uno o más átomos se reemplazan por un átomo que tiene una masa atómica o número másico diferente de la masa atómica o número másico que se encuentra normalmente en la naturaleza. Los ejemplos de isótopos que pueden incorporarse en compuestos de la invención incluyen isótopos de hidrógeno, carbono, nitrógeno, oxígeno, fósforo, azufre, flúor, yodo, y cloro, tales como 2H , 3H , ^{11}C , ^{13}C , ^{14}C , ^{15}N , ^{15}O , ^{17}O , ^{18}O , ^{31}P , ^{32}P , ^{35}S , ^{18}F , ^{125}I , ^{129}I y ^{36}Cl , respectivamente.

Algunos compuestos marcados con isótopos de la presente invención (por ejemplo, aquellos marcados con ^3H y ^{14}C) son útiles en ensayos de distribución de compuestos y/o sustratos en tejidos. Los isótopos tritio (es decir, ^3H) y carbono-14 (es decir, ^{14}C) se prefieren particularmente por su facilidad de preparación y detectabilidad. Además, la sustitución con isótopos más pesados tales como deuterio (es decir, ^2H) puede proporcionar ciertas ventajas terapéuticas que resultan de mayor estabilidad metabólica (por ejemplo, semi-vida incrementada *in vivo* o requisitos de dosificación reducidos) y por lo tanto puede preferirse en algunas circunstancias. Los isótopos emisores de positrones tales como ^{15}O , ^{13}N , ^{11}C y ^{18}F son útiles para estudios de tomografía de emisión de positrones (PET) para examinar la ocupación del sustrato. Los compuestos marcados con isótopos de la presente invención pueden prepararse generalmente siguiendo procedimientos análogos a los descritos en los Esquemas y/o en los Ejemplos que se muestran más adelante en el presente documento, sustituyendo un reactivo marcado con isótopos por un reactivo no marcado con isótopos.

Los compuestos de la presente invención son útiles para tratar enfermedades, afecciones y/o trastornos modulados por la inhibición de los transportadores de sodio-glucosa (en particular SGLT2); por lo tanto, otra realización de la presente invención es una composición farmacéutica que comprende una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Los compuestos de la presente invención (que incluyen las composiciones y procedimientos usados en los mismos) también se pueden usar en la preparación de un medicamento para las aplicaciones terapéuticas descritas en el presente documento.

Una formulación típica se prepara mezclando un compuesto de la presente invención y un vehículo, diluyente o excipiente. Los especialistas en la técnica conocen los vehículos, diluyentes y recipientes adecuados e incluyen materiales tales como carbohidratos, ceras, polímeros solubles en agua y/o hinchables en agua, materiales hidrófilos o hidrófobos, gelatina, aceites, disolventes, agua y similares. El vehículo, diluyente o excipiente particular usado dependerá de los medios y propósitos para los que el compuesto de la presente invención se esté aplicando. Los disolventes generalmente se seleccionan basándose en disolventes reconocidos por especialistas en la técnica y seguros (GRAS) para administrarse a un mamífero. En general, los disolventes seguros son disolventes acuosos no tóxicos tales como agua y otros disolventes no tóxicos que son solubles o miscibles en agua. Los disolventes acuosos adecuados incluyen agua, etanol, propilenoglicol, polietilenoglicoles (por ejemplo, PEG400 y PEG300), etc. y mezclas de los mismos. Las formulaciones también pueden incluir uno o más tampones, agentes estabilizantes, tensioactivos, agentes humectantes, agentes lubricantes, emulsificantes, agentes de suspensión, conservantes, antioxidantes, agentes opacificantes, emolientes, ayudas de procesamiento, colorantes, edulcorantes, agentes perfumantes, agentes saporíferos y otros aditivos conocidos para proporcionar una presentación elegante del fármaco (es decir, un compuesto de la presente invención o composición farmacéutica del mismo) o ayudar en la preparación del producto farmacéutico (es decir, medicamento).

Las formulaciones se pueden preparar usando procedimientos de disolución y mezcla convencionales. Por ejemplo, el principio activo (es decir, compuesto de la presente invención o forma estabilizada del compuesto (por ejemplo, en complejo con un derivado de ciclodextrina u otro agente de formación de complejos conocido)) se disuelve en un disolvente adecuado en presencia de uno o más de los excipientes descritos anteriormente. El compuesto de la presente invención se formula típicamente en formas farmacéuticas para proporcionar una dosis fácilmente controlable del fármaco y para dar al paciente un producto elegante y de fácil manejo.

Las composiciones farmacéuticas también incluyen solvatos e hidratos de los compuestos de Fórmula (I). El término "solvato" se refiere a un complejo molecular de un compuesto representado por Fórmula (I) (incluyendo sales farmacéuticamente aceptables de los mismos) con una o más moléculas de disolvente. Tales moléculas de disolvente son las que se usan comúnmente en la técnica farmacéutica, que se sabe que son inocuas para el receptor, por ejemplo, agua, etanol, etilenoglicol y similares. El término "hidrato" se refiere al complejo donde la molécula de disolvente es agua. Los solvatos y/o hidratos preferentemente existen en forma cristalina. Se pueden usar otros disolventes como solvatos intermediarios en la preparación de solvatos más deseables, tales como metanol, éter metil-*t*-butilico, acetato de etilo, acetato de metilo, (S)- propilenoglicol, (R)- propilenoglicol, 1,4-butanadiol y similares. Las formas cristalinas también pueden existir como complejos con otras moléculas pequeñas inocuas, tales como L-fenilalanina, L-prolina, ácido L-piroglutámico y similares, como co-cristales o solvatos o hidratos del material co-cristalino. Los compuestos de solvatos, hidratos y co-cristalinos se pueden preparar usando procedimientos descritos en la Publicación PCT N° WO 08/002824, incorporada en el presente documento como referencia u otros procedimientos conocidos por los especialistas en la técnica.

La composición farmacéutica (o formulación) para aplicación se puede envasar en una diversidad de maneras dependiendo del procedimiento usado para administrar el fármaco. En general, un artículo para distribución incluye un recipiente que tiene depositado en el mismo la formulación farmacéutica en una forma apropiada. Los especialistas en la técnica conocen los recipientes adecuados e incluyen materiales tales como botellas (plásticas y de vidrio), bolsitas, ampollas, bolsas plásticas, cilindros de metal y similares. El recipiente también puede incluir un ensamblaje a prueba de manipulación para evitar el acceso indiscreto al contenido del envase. Además, el recipiente tiene depositado en el mismo una etiqueta que describe el contenido del recipiente. La etiqueta también puede incluir advertencias apropiadas.

La presente invención proporciona además un procedimiento para tratar enfermedades, afecciones y/o trastornos modulados por la inhibición de transportadores de sodio-glucosa en un animal que incluye administrar a un animal que necesita tal tratamiento una cantidad terapéuticamente eficaz de un compuesto de la presente invención o una composición farmacéutica que comprende una cantidad eficaz de un compuesto de la presente invención y un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. El procedimiento es particularmente útil para tratar enfermedades, afecciones y/o trastornos que se benefician de la inhibición de SGLT2.

Un aspecto de la presente invención es el tratamiento de obesidad y trastornos relacionados con la obesidad (por ejemplo, sobrepeso, ganancia de peso o mantenimiento de peso).

La obesidad y el sobrepeso generalmente están definidos por el índice de masa corporal (IMC), que está correlacionado con la grasa corporal total y estima el riesgo relativo de enfermedad. El IMC se calcula mediante el peso en kilogramos dividido entre la altura en metros cuadrados (kg/m^2). El sobrepeso típicamente se define como un IMC de 25-29,9 kg/m^2 y la obesidad típicamente se define como un IMC de 30 kg/m^2 . Véase, por ejemplo, National Heart, Lung, and Blood Institute, Clinical Guidelines on the Identification, Evaluation, and Treatment of Overweight and Obesity in Adults, The Evidence Report, Washington, DC: U.S. Department of Health and Human Services, N° de publicación NIH 98-4083 (1998).

Otro aspecto de la presente invención es para el tratamiento o el retraso de la progresión o aparición de diabetes o trastornos relacionados con diabetes que incluyen diabetes de Tipo 1 (diabetes mellitus dependiente de insulina, también denominada "DMNDI") y de Tipo 2 (diabetes mellitus no dependiente de insulina, también denominada "DMNDI"), tolerancia a la glucosa alterada, curación de heridas retardada, hiperinsulinemia, niveles elevados en sangre de ácidos grasos, hiperlipidemia, hipertrigliceridemia, Síndrome X, niveles de lipoproteína de alta densidad aumentados, resistencia a la insulina, hiperglicemia y complicaciones diabéticas (tales como aterosclerosis, cardiopatía coronaria, apoplejía, enfermedad vascular periférica, nefropatía, hipertensión, neuropatía y retinopatía).

En todavía otro aspecto de la presente invención está el tratamiento de co-morbilidades de obesidad, tales como síndrome metabólico. El síndrome metabólico incluye enfermedades, afecciones o trastornos tales como dislipidemia, hipertensión, resistencia a la insulina, diabetes (por ejemplo, diabetes de Tipo 2), arteriopatía coronaria e insuficiencia cardíaca. Para información más detallada sobre el Síndrome Metabólico, véase, por ejemplo, Zimmet, P. Z., y cols., "The Metabolic Syndrome: Perhaps an Etiologic Mystery but Far From a Myth - Where Does the International Diabetes Federation Stand?," Diabetes & Endocrinology, 7(2), (2005) y Alberti, K. G., y cols., "The Metabolic Syndrome - A New Worldwide Definition," Lancet, 366, 1059-62 (2005).

Preferentemente, la administración de los compuestos de la presente invención proporciona una reducción estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en al menos un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular, tal como disminución de leptina plasmática, proteína C-reativa (CRP) y/o colesterol, en comparación con un control de vehículo que no contiene ningún fármaco. La administración de compuestos de la presente invención también puede proporcionar una reducción estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en los niveles de glucosa en suero.

Para un ser humano adulto normal que tiene un peso corporal de aproximadamente 100 kg, típicamente es suficiente una dosis en el intervalo de aproximadamente 0,001 mg a aproximadamente 10 mg por kilogramo de peso corporal, preferentemente de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 5,0 mg/kg, más preferentemente de aproximadamente 0,01 mg/kg a aproximadamente 1 mg/kg. Sin embargo, puede ser necesaria cierta variabilidad en el intervalo de dosis general dependiendo de la edad y peso del sujeto que se esté tratando, la vía de administración pretendida, el compuesto particular que se esté administrando y similares. La determinación de intervalos de dosificación y dosificaciones óptimas para un paciente particular está bien dentro de la habilidad de un especialista en la técnica que tiene el beneficio de la presente descripción. También se observa que los compuestos de la presente invención se pueden usar en formulaciones de liberación sostenida, liberación controlada y liberación retardada, formas que son bien conocidas para alguien de habilidad normal en la técnica.

Los compuestos de esta invención también se pueden usar junto con otros agentes farmacéuticos para el tratamiento de enfermedades, afecciones y/o trastornos descritos en el presente documento. Por lo tanto, también se proporcionan procedimientos de tratamiento que incluyen administrar compuestos de la presente invención en combinación con otros agentes farmacéuticos. Los agentes farmacéuticos adecuados que se pueden usar en combinación con los compuestos de la presente invención incluyen agentes anti-obesidad (que incluyen supresores del apetito), agentes anti-diabéticos, agentes anti-hiperglicémicos, agentes reductores de lípidos, agentes anti-inflamatorios y agentes anti-hipertensivos.

Los agentes anti-obesidad adecuados incluyen antagonistas de cannabinoide-1 (CB-1) (tales como rimonabant), inhibidores de 11 β -hidroxí esteroide deshidrogenasa-1 (11 β -HSD de tipo 1), inhibidor de esteroil-CoA desaturasa-1 (SCD-1), agonistas de MCR-4, agonistas de colecistoquinina-A (CCK-A), inhibidores de la recaptación de monoamina (tales como sibutramina), agentes simpaticomiméticos, agonistas adrenérgicos β_3 , agonistas de dopamina (tales como bromocriptina), análogos de hormona estimulante de melanocitos, agonistas de 5HT2c, antagonistas de hormona concentradora de melanina, leptina (la proteína OB), análogos de leptina, agonistas de leptina, antagonistas de galanina, inhibidores de lipasa (tales como tetrahidrolipstatina, es decir, orlistat), agentes anorécticos (tales como un agonista de bombesina), antagonistas de neuropéptido-Y (por ejemplo, antagonistas de NPY Y5), PYY₃₋₃₆ (incluyendo análogos del mismo), agentes tiromiméticos, de hidropeandosterona o un análogo de la misma, agonistas o antagonistas de glucocorticoides, antagonistas de orexina, agonistas de péptido-1 similar a glucagón, factores neutróficos ciliares (tales como Axokine™ disponible en Regeneron Pharmaceuticals, Inc., Tarrytown, NY y Procter & Gamble Company, Cincinnati, OH), inhibidores de proteína relacionada con agutí humana (AGRP), antagonistas de grelina, antagonistas o agonistas inversos de histamina 3, agonistas de neuromedina U, inhibidores de MTP/ApoB (por ejemplo, inhibidores de MTP selectivos de intestino, tales como dirlotapida), antagonistas opioides, antagonistas de orexina y similares.

Los agentes anti-obesidad preferidos para uso en los aspectos de combinación de la presente invención incluyen antagonistas de CB-1 (por ejemplo, rimonabant, taranabant, surinabant, otenabant, SLV319 (N° de CAS 464213-10-3) y AVE 1625 (N° de CAS 358970-97-5)), inhibidores de MTP selectivos de intestino (por ejemplo, dirlotapida, mitratapida e implitapida, R56918 (N° de CAS 403987) y N° de CAS 913541-47-6), agonistas de CCKa (por ejemplo, N-bencil-2-[4-(1*H*-indol-3-ilmetil)-5-oxo-1-fenil-4,5-dihidro-2,3,6,10b-tetraaza-benzo[e]jazulen-6-il]-*N*-isopropil-acetamida, descrito en publicación PCT N° WO 2005/116034 o Publicación US N° 2005-0267100 A1), agonistas de 5HT2c (por ejemplo, lorcaserina), agonistas de MCR4 (por ejemplo, compuestos descritos en el documento US 6.818.658), inhibidor de lipasa (por ejemplo, Cetilistat), PYY₃₋₃₆ (como se usa en el presente documento "PYY₃₋₃₆" incluye análogos, tales como PYY₃₋₃₆ pegilado, por ejemplo, los descritos en la Publicación US 2006/0178501), antagonistas opioides (por ejemplo, naltrexona), oleoil-estrona (N° de CAS 180003-17-2), obinepitida (TM30338), pramlintida (Symlin®), tesofensina (NS2330), leptina, liraglutida, bromocriptina, orlistat, exenatida (Byetta®), AOD-

9604 (Nº de CAS 221231-10-3) y sibutramina. Preferentemente, los compuestos de la presente invención y terapias de combinación se administran junto con ejercicios y una dieta prudente.

Los agentes anti-diabéticos adecuados incluyen un inhibidor de acetil-CoA carboxilasa-2 (ACC-2), un inhibidor de fosfodiesterasa (PDE)-10, un inhibidor de diacilglicerol aciltransferasa (DGAT) 1 ó 2, una sulfoniluria (por ejemplo, acetohexamida, clorpropamida, diabinese, glibenclamida, glipizida, gliburida, glimepirida, gliclazida, glipentida, gliquidona, glisulamida, tolazamida, y tolbutamida), una meglitinida, un inhibidor de α -amilasa (por ejemplo, tendamistat, trestatina y AL-3688), un inhibidor de α -glucósido hidrolasa (por ejemplo, acarbosa), un inhibidor de α -glucosidasa (por ejemplo, adiposina, camiglibosa, emiglitato, miglitol, voglibosa, pradamicina-Q y salbostatina), un agonista de PPAR _{γ} (por ejemplo, balaglitazona, ciglitazona, darglitazona, englitazona, isaglitazona, pioglitazona, rosiglitazona y troglitazona), un agonista de PPAR _{α/β} (por ejemplo, CLX-0940, GW-1536, GW-1929, GW-2433, KRP-297, L-796449, LR-90, MK-0767 y SB-219994), una biguanida (por ejemplo, metformina), un agonista de péptido 1 similar a glucagón (GLP-1) (por ejemplo, exendina-3 y exendina-4), un inhibidor de proteína tirosina fosfatasa-1B (PTP-1B) (por ejemplo, trodusquemina, extracto de hirtiosal y compuestos descritos por Zhang, S., y cols., Drug Discovery Today, **12**(9/10), 373-381 (2007)), un inhibidor de SIRT-1 (por ejemplo, reservatrol), un inhibidor de dipeptidil peptidasa IV (DPP-IV) (por ejemplo, sitagliptina, vildagliptina, alogliptina y saxagliptina), un secretagogo de insulina, un inhibidor de oxidación de ácidos grasos, un antagonista de A2, un inhibidor de quinasa amino-terminal de c-jun (JNK), insulina, un mimético de insulina, un inhibidor de glicógeno fosforilasa, un agonista de receptor de VPAC2 y un activador de glucoquinasa. Los agentes anti-diabéticos preferidos son metformina e inhibidores de DPP-IV (por ejemplo, sitagliptina, vildagliptina, alogliptina y saxagliptina).

Los agentes anti-inflamatorios adecuados incluyen preventivos y tratamientos de infección de tracto genital/tracto urinario. Los agentes ilustrativos incluyen arándanos (es decir, *Vaccinium macrocarpon*) y derivados de arándanos tales como zumo de arándanos, extractos de arándanos o flavonoles de arándanos. Los extractos de arándanos pueden incluir uno o más flavonoles (es decir, antocianinas y proantocianidinas) o un compuesto flavonol de arándano purificado, que incluye miricetin-3- β -xilopiranosido, quercetin-3- β -glucósido, quercetin-3- α -arabinopiranosido, 3'-metoxiquercetin-3- α -xilopiranosido, quercetin-3-O-(6"-p-cumaroil)- β -galactósido, quercetin-3-O-(6"-benzoil)- β -galactósido y/o quercetin-3- α -arabinofuranósido.

Las realizaciones de la presente invención se ilustran mediante los siguientes ejemplos. Sin embargo, se debe apreciar que las realizaciones de la invención no se limitan a los detalles específicos de estos Ejemplos, ya que se conocerán otras variaciones de los mismos o se harán evidentes a la luz de la presente descripción, para un especialista en la técnica.

Ejemplos

A menos que se especifique otra cosa, los materiales de partida están disponibles generalmente en fuentes comerciales tales como Aldrich Chemicals Co. (Milwaukee, WI) Lancaster Synthesis, Inc. (Windham, NH), Acros Organics (Fairlawn, NJ), Maybridge Chemical Company, Ltd. (Cornwall, Inglaterra), Tyger Scientific (Princeton, NJ), AstraZeneca Pharmaceuticals (Londres, Inglaterra) y Accela ChemBio (San Diego, CA).

Procedimientos experimentales generales

Los espectros de RMN se registraron en un Varian Unity™ 400 (disponible en Varian Inc., Palo Alto, CA) a temperatura ambiente a 400 MHz para protones. Los desplazamientos químicos se expresan en partes por millón (delta) con respecto al disolvente residual como patrón interno. Las formas de pico se muestran como se indica a continuación: s, singlete; d, doblete; dd, doblete de dobletes; t, triplete; c, cuádruplete; m, multiplete; sa o s a, singlete ancho; 2s, dos singletes; d a, doblete ancho. Los espectros de masas por ionización por electropulverización (EM) se obtuvieron en un instrumento Waters™ ZMD (gas portador: nitrógeno; disolvente A: agua/ácido fórmico al 0,01%, disolvente B: acetonitrilo/ácido fórmico al 0,005%; disponible en Waters Corp., Milford, MA). Los espectros de masas de alta resolución (EMAR) se obtuvieron en un tiempo de vuelo Agilent™ Model 6210. Cuando se describe la intensidad de iones que contienen cloro unitario o bromo unitario, se observó la relación de intensidad esperada (aproximadamente 3:1 para iones que contienen ³⁵Cl/³⁷Cl y 1:1 para iones que contienen ⁷⁹Br/⁸¹Br) y sólo se da la intensidad del ion con menor masa. En algunos casos, sólo se dan los picos representativos de RMN de ¹H.

La cromatografía en columna se realizó con gel de sílice Baker™ (40 micrómetros; J.T. Baker, Phillipsburg, NJ) o Silica Gel 50 (EM Sciences™, Gibbstown, NJ) en columnas de vidrio o en columnas Flash 40 Biotage™ (ISC, Inc., Shelton, CT). La MPLC (cromatografía líquida a media presión) se realizó usando un sistema de purificación Biotage™ SP o un Combiflash® Companion® de Teledyne™ Isco™; Se usaron cartuchos Biotage™ SNAP KPsil o sílice Redisep Rf (de Teledyne™ Isco™) a baja presión de nitrógeno. La HPLC (cromatografía líquida a alta presión) se realizó usando un Shimadzu™ 10A LC-UV o un Agilent™ 1100 preparatory HPLC.

Excepto cuando se indique otra cosa, todas las reacciones se realizaron en una atmósfera inerte de gas nitrógeno usando disolventes anhidros. Además, excepto cuando se indique otra cosa, todas las reacciones se realizaron a temperatura ambiente (~23°C).

Cuando se realiza la TLC (cromatografía de capa fina), R_f se define como la relación de la distancia recorrida por el compuesto dividida por la distancia recorrida por el eluyente. R_t (tiempo de retención).

Materiales de partida

En general, cualquiera de los siguientes materiales de partida puede prepararse usando los procedimientos descritos en los Esquemas 7 u 8 de la Publicación de Estados Unidos Nº 2008/0132563, o como alternativa, los Esquemas 2, 3 u 8 de la Publicación de Estados Unidos Nº 2007/0259821. Más específicamente, los siguientes materiales de partida usados en los siguientes Ejemplos pueden prepararse usando los procedimientos descritos en las referencias correspondientes o pueden adquirirse del distribuidor correspondiente.

Puede prepararse 4-bromo-2-(4-metoxi-bencil)-1-metil-benceno por los procedimientos descritos en el Ejemplo 8 de la Publicación PCT N° WO 01/027128.

Puede prepararse 4-Bromo-2-(4-etoxi-bencil)-1-metil-benceno por los procedimientos descritos en el Ejemplo de Preparación 17 del documento US2008/0132563.

- 5 Puede prepararse 4-bromo-1-cloro-2-(4-metoxi-bencil)-benceno por los procedimientos descritos en el Ejemplo de Preparación 19 del documento US2008/0132563 o el Ejemplo V del documento US2007/0259821.

Puede adquirirse 4-Bromo-1-cloro-2-(4-etoxi-bencil)-benceno en Shanghai Haoyuan Chemexpress Co., Ltd., Shanghai, People's Republic of China.

- 10 Puede prepararse 4-bromo-2-(4-metoxi-bencil)-benzonitrilo por los procedimientos descritos en el Ejemplo XXII del documento US2007/0259821.

Los siguientes materiales de partida se prepararon como se describe a continuación.

Preparación de 4-bromo-1-fluoro-2-(4-metoxi-bencil)-benceno:

- 15 Se añadió gota a gota cloruro de oxalilo (11,0 ml, 126 mmol) a una suspensión bien agitada de ácido 5-bromo-2-fluoro-benzoico (25,0 g, 114 mmol) en diclorometano (150 ml) y *N,N*-dimetilformamida (1,5 ml) a 0°C. La mezcla resultante se dejó calentar gradualmente a temperatura ambiente. Después de 18 horas, el sólido se había disuelto. La solución de color naranja claro resultante se concentró a presión reducida y se extrajo dos veces con éter dietílico para producir cloruro de 5-bromo-2-fluoro-benzoilo (27,0 g, rendimiento cuantitativo) en forma de un aceite de color naranja pálido.

- 20 A una solución de cloruro de 5-bromo-2-fluorobenzoilo (27,0 g, 114 mmol) y anisol (12,9 g, 13,0 ml, 119 mmol) en diclorometano (150 ml) a 0°C se le añadió en porciones tricloruro de aluminio (16,2 g, 119 mmol) de manera que la temperatura interna permaneció por debajo de 10°C. Después de agitar durante 4 horas a 0°C, la solución se vertió sobre hielo picado y la mezcla resultante se agitó. Después de 30 minutos, la fase orgánica se retiró y la fase acuosa se extrajo dos veces con diclorometano. Las fases orgánicas combinadas se lavaron una vez con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico, una vez con una solución acuosa 1 M de hidróxido sódico y una vez con salmuera.
- 25 La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo resultante se recristalizó a partir de etanol para proporcionar (5-bromo-2-fluoro-fenil)-(4-metoxi-fenil)-metanona (22,5 g, 64%) en forma de un sólido de color blanco.

- 30 A una solución bien agitada de (5-bromo-2-fluoro-fenil)-(4-metoxi-fenil)-metanona (22,5 g, 72,80 mmol) y trietilsilano (27,9 ml, 20,3 g, 175,0 mmol) en diclorometano (20 ml) y acetoniitrilo (60 ml) a 0°C se le añadió gota a gota eterato de trifluoruro de boro (32,0 ml, 36,2 g, 255,0 mmol). Se añadió eterato de trifluoruro de boro a tal velocidad que la temperatura interna no superó 20°C. La solución de reacción se calentó a temperatura ambiente y se agitó durante toda una noche. Después de un total de 18 horas, se añadió una solución de hidróxido potásico (5,0 g) en agua (15,0 ml) y la mezcla resultante se agitó durante 2 horas. La fase orgánica se separó y la fase acuosa se extrajo dos veces con éter dietílico. Las fases orgánicas combinadas se lavaron una vez con una solución acuosa 1 M de hidróxido sódico y una vez con salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró a presión reducida. Después de la adición de etanol al residuo resultante, se formó un sólido de color blanco. El sólido se recogió y se secó a alto vacío para producir 4-bromo-1-fluoro-2-(4-metoxi-bencil)-benceno (20,1 g, 93% de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco.
- 35

- 40 RMN de ¹H (400 MHz, cloroformo-*d*) delta ppm 3,79 (s, 3 H), 3,89 (s, 2 H), 6,85 (d, *J* = 8,6 Hz, 2 H), 6,91 (t, 1 H), 7,12 (d, *J* = 8,8 Hz, 2 H), 7,21 - 7,31 (m, 2 H).

Preparación del material de partida 4-bromo-2-(4-etoxi-bencil)-benzonitrilo:

- 45 Una solución de (4-etoxi-fenil)acetato de etilo (2,68 g, 12,87 mmol) y 4-bromo-2-fluoro-benzonitrilo (2,74 g, 13,70 mmol) en *N*-metilpirrolidona (4 ml) se añadió lentamente a una suspensión de *tert*-butóxido potásico (3,14 g, 27,98 mmol) en *N*-metilpirrolidona (13 ml) a 0°C. Después de la adición, la solución se volvió de color rojo oscuro. La mezcla de color rojo oscuro se agitó a 0°C durante 30 minutos y después a temperatura ambiente durante 1 hora. Se añadieron metanol (10 ml) y una solución acuosa 1 M de hidróxido sódico (13,7 ml) y la mezcla se agitó durante toda una noche a temperatura ambiente. El pH se ajustó a ~4 con ácido clorhídrico (solución acuosa 1 M) y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (50 ml x 4). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron a sequedad. Se añadieron *N,N*-dimetilformamida (5 ml) y carbonato potásico (7 g) y la mezcla se calentó a 100°C durante 1 hora y se enfrió a temperatura ambiente. Se añadió agua y la mezcla se extrajo con acetato de etilo (60 ml x 3). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico y se evaporaron a sequedad. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 0 al 14% en heptano), para producir 2,26 g del producto en bruto (que contenía el producto deseado y otro producto). El producto en bruto se precipitó con metanol, produciendo 4-bromo-2-(4-etoxi-bencil)-benzonitrilo (1,2 g, que contenía un 5% de otro compuesto con picos de
- 50
- 55 RMN a 4,15 ppm cuádruple y 1,5 ppm triplete).

RMN de ¹H (400 MHz, cloroformo-*d*) delta 7,48-7,38 (m, 3 H), 7,13 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 6,85 (d, *J* = 8,4 Hz, 2H), 4,08 (s, 2H), 4,03 (c, *J* = 7,2 Hz, 2H), 1,41 (t, *J* = 7,2 Hz, 3H).

Preparación del material de partida 4-bromo-2-(4-etoxi-bencil)-4-fluoro-benceno

- 60 A una solución de 4-bromo-1-fluoro-2-(4-metoxi-bencil)-benceno (4,2 g, 14,2 mmol) en diclorometano (20 ml) a 0°C se le añadió gota a gota lentamente una solución 1 M de tribromuro de boro en diclorometano (15,7 ml, 16,0 mmol) durante 10 minutos. Una vez que se completó la adición de tribromuro de boro la mezcla de reacción se calentó

gradualmente a temperatura ambiente. Después de 4 horas, la mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se inactivó mediante la adición lenta de una solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico (20 ml). La mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos y se extrajo dos veces con diclorometano. Las fases orgánicas combinadas se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida para producir a un sólido de color rosa claro (3,83 g, 96%). El producto en bruto 4-(5-bromo-2-fluoro-bencil)-fenol se usó en la siguiente etapa sin purificación adicional.

RMN de ^1H (400 MHz, cloroformo-*d*) delta ppm 3,88 (s, 2 H), 4,76 (s a, 1 H), 6,77 (d, $J = 8,2$ Hz, 2 H), 6,91 (t, $J = 9,1$ Hz, 1 H), 7,07 (d, $J = 8,6$ Hz, 2 H), 7,23 (dd, $J = 6,8, 2,3$ Hz, 1 H), 7,26 - 7,31 (m, 1 H).

A una solución de 4-(5-bromo-2-fluoro-bencil)-fenol (6,0 g, 21,0 mmol) en *N,N*-dimetilformamida anhidra (20 ml) enfriada a 0°C se le añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite mineral, 1,02 g, 25,6 mmol). Después de agitar a 0°C durante 45 minutos, se añadió gota a gota yodoetano (2,08 ml, 25,6 mmol) y la mezcla resultante se dejó calentar a temperatura ambiente. Después de 18 horas, la mezcla de reacción se inactivó con agua y se extrajo dos veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavaron dos veces con agua y una vez con salmuera, se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 0 al 10% en heptano, produciendo 4,6 g (58% de rendimiento) del producto deseado en forma de un aceite de color amarillo.

RMN de ^1H (400 MHz, cloroformo-*d*) delta ppm 1,40 (t, $J = 7,0$ Hz, 3 H), 3,89 (s, 2 H), 4,01 (c, $J = 6,9$ Hz, 2 H), 6,83 (d, $J = 8,4$ Hz, 2 H), 6,91 (t, $J = 9,0$ Hz, 1 H), 7,10 (d, $J = 8,8$ Hz, 2 H), 7,20 - 7,30 (m, 2 H).

20 Preparación de éster tetrahidro-furan-3-ílico del ácido tolueno-4-sulfónico

A una solución de 3-hidroxi tetrahidrofurano (2,5 g, 28,0 mmol) en piridina anhidra (60 ml) a temperatura ambiente se le añadió cloruro de 4-toluenosulfonilo (6,49 g, 34,0 mmol). Después de agitar la mezcla de reacción durante 18 horas a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 0 al 30% en heptano, produciendo 3,5 g (51% de rendimiento) del producto deseado en forma de un aceite incoloro.

RMN de ^1H (400 MHz, cloroformo-*d*) delta ppm 2,05 - 2,12 (m, 2 H), 2,45 (s, 3 H), 3,77 - 3,92 (m, 4 H), 5,09 - 5,14 (m, 1 H), 7,35 (d, $J = 8,00$ Hz, 2 H), 7,79 (d, 2 H).

Preparación de éster oxetan-3-ílico del ácido tolueno-4-sulfónico

A una solución de oxetan-3-ol (1,0 g, 13,0 mmol) en piridina anhidra (25 ml) a temperatura ambiente se le añadió cloruro de 4-toluenosulfonilo (3,09 g, 16,2 mmol). Después de agitar la mezcla de reacción durante 18 horas a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 0 al 30% en heptano, produciendo 1,9 g (62% de rendimiento) del producto deseado en forma de un sólido de color blanco.

RMN de ^1H (400 MHz, cloroformo-*d*) delta ppm 2,46 (s, 3 H), 4,63 - 4,75 (m, 4 H), 5,26 - 5,34 (m, 1 H), 7,36 (d, $J = 8,00$ Hz, 2 H), 7,78 (d, $J = 8,40$ Hz, 2 H).

Preparación del material de partida 3-[4-(5-bromo-2-fluoro-bencil)-fenoxi]-tetrahidro-furano

A una solución de 4-(5-bromo-2-fluoro-bencil)-fenol (1,5 g, 5,3 mmol) y carbonato de cesio (2,61 g, 8,0 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (15,0 ml) a temperatura ambiente se le añadió una solución de éster tetrahidro-furan-3-ílico del ácido tolueno-4-sulfónico (1,94 g, 8,0 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (10,0 ml). Después, la mezcla de reacción se agitó durante toda una noche a 50°C. Después de un total de 18 horas, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con salmuera y se extrajo 3 veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavaron dos veces con agua y una vez con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo en bruto resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 0 al 30% en heptano, produciendo 1,66 g (89% de rendimiento) del producto deseado en forma de un aceite incoloro. RMN de ^1H (400 MHz, cloroformo-*d*) delta ppm 2,09 - 2,24 (m, 2 H), 3,86 - 4,01 (m, 6 H), 4,86 - 4,91 (m, 1 H), 6,80 (d, $J = 8,6$ Hz, 2 H), 6,91 (t, $J = 9$ Hz, 1 H), 7,10 (d, $J = 8,6$ Hz, 2 H), 7,23 (dd, $J = 6,8, 2,5$ Hz, 1 H), 7,26 - 7,31 (m, 1 H).

Preparación del material de partida 3-[4-(5-bromo-2-fluoro-bencil)-fenoxi]-oxetano

A una solución de 4-(5-bromo-2-fluoro-bencil)-fenol (1,1 g, 3,9 mmol) y carbonato de cesio (1,91 g, 5,87 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (15,0 ml) a temperatura ambiente se le añadió una solución de éster oxetan-3-ílico del ácido tolueno-4-sulfónico (1,34 g, 8,0 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (10,0 ml). Después la mezcla de reacción se agitó durante toda una noche a 65°C. Después de un total de 18 horas, la mezcla de reacción se enfrió a temperatura ambiente, se diluyó con salmuera y se extrajo 3 veces con acetato de etilo. Las fases orgánicas combinadas se lavaron dos veces con agua y una vez con salmuera, se secaron sobre sulfato sódico, se filtraron y se concentraron a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 0 al 30% en heptano, produciendo 0,948 g (72% de rendimiento) del producto deseado en forma de un sólido de color blanco.

RMN de ^1H (400 MHz, cloroformo-*d*) delta ppm 3,88 (s, 2 H), 4,76 (dd, $J = 7,22, 5,3$ Hz, 2 H), 4,95 (t, $J = 6,6$ Hz, 2 H), 5,14 - 5,21 (m, 1 H), 6,63 (d, $J = 8,4$ Hz, 2 H), 6,92 (dd, 1 H), 7,10 (d, $J = 8,6$ Hz, 2 H), 7,23 (dd, $J = 6,6, 2,15$ Hz, 1 H), 7,26 - 7,31 (m, 1 H).

Preparación de 3-(4-(5-bromo-2-clorobencil)fenoxi)oxetano:

Se disolvió 4-bromo-1-cloro-2-(4-metoxibencil)-benceno (10 g, 32 mmol) en diclorometano (32 ml) y se enfrió a 0°C en atmósfera de nitrógeno. Se añadió gota a gota una solución 1,0 M de tribromuro de boro en diclorometano (35,3 ml, 34,3 mmol) durante 10 minutos.

- 5 Después de la adición, el baño de hielo se retiró y la solución se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se inactivó mediante la adición de una solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico (45 ml). La mezcla se agitó durante 30 minutos, se transfirió a un embudo de decantación, la fase orgánica se recogió y la fase acuosa se extrajo con diclorometano (45 ml). Los extractos orgánicos combinados se secaron sobre sulfato de magnesio, se filtraron y se concentraron al vacío para producir 4-(5-bromo-2-clorobencil)fenol (9,5 g, 99% de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco.

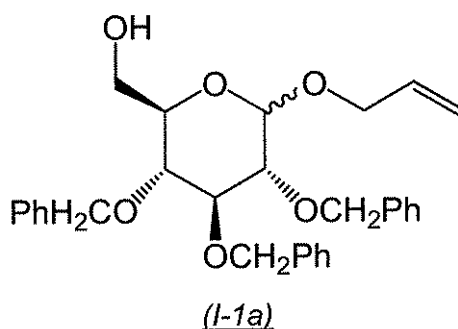
- 10 A una solución de 4-(5-bromo-2-clorobencil)fenol en bruto (3,0 g, 10 mmol) y carbonato de cesio (4,9 g, 15 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (77,5 ml) a temperatura ambiente se le añadió una solución de oxetan-3-il éster del ácido tolueno-4-sulfónico (3,5 g, 15 mmol) en *N,N*-dimetilformamida (8 ml). La mezcla se calentó a 65°C durante 22 horas después de lo que se añadió una alícuota adicional de carbonato de cesio (3,3 g, 10 mmol). La mezcla de reacción se agitó durante 12 horas más a 120°C y se enfrió a temperatura ambiente, después de lo cual se añadieron agua y acetato de etilo y la mezcla se acidificó cuidadosamente con una solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera (3 veces) y se concentró al vacío. La purificación por Biotage CLMP (gel de sílice, eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 0 al 25% en heptano) produjo 3-(4-(5-bromo-2-clorobencil)fenoxi)oxetano (2,5 g, 70% de rendimiento) en forma de un sólido de color blanco.

- 20 RMN de ^1H (400 MHz, diclorometano- d_2) delta ppm 7,34 - 7,28 (m, 2 H), 7,26 (d, $J = 8,4$ Hz, 1 H), 7,14 - 7,09 (m, 2 H), 6,69 - 6,35 (m, 2 H), 5,22 - 5,16 (m, 1 H), 4,96 - 4,91 (m, 2H), 4,72 - 4,68 (m, 2H), 4,01 (s, 2H).

Preparación de 4-bromo-2-(4-cloro-bencil)-1-fluoro-benceno

- 25 Una solución de 5-bromo-2-fluorobenzaldehído (10,2 g, 50 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (200 ml) se enfrió a -78°C. Se añadió una solución de bromuro de 4-clorofenil-magnesio (1 M en éter dietílico, 60 ml, 60 mmol) mediante una jeringa durante 8 minutos. La agitación se continuó a baja temperatura durante 5 minutos y la reacción se calentó hasta temperatura ambiente y se agitó durante 1 hora a esta temperatura. La solución se enfrió en un baño de hielo-agua y se inactivó mediante la adición de una solución acuosa saturada de cloruro de amonio (40 ml). La fase orgánica se decantó y el residuo acuoso se concentró a presión reducida para retirar cualquier disolvente orgánico restante. La fase acuosa se extrajo con acetato de etilo (200 ml x 2) y los extractos se combinaron con la solución decantada de tetrahidrofurano. Esta solución se lavó con salmuera (25 ml), se secó (sulfato sódico), se filtró y se concentró a presión reducida, dando (5-bromo-2-fluorofenil)-(4-clorofenil)-metanol en bruto (15,2 g, 96% de rendimiento) en forma de un sólido de color amarillo.

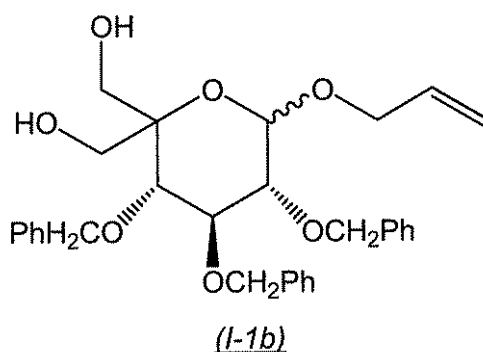
- 30 A una solución del (5-bromo-2-fluorofenil)-(4-clorofenil)-metanol anterior (15,0 g, 48 mmol) y trietilsilano (18,5 ml, 116 mmol) en diclorometano (40 ml) y acetonitrilo (20 ml) a 0°C en atmósfera de nitrógeno se le añadió lentamente dietileterato de trifluoruro de boro (22,7 ml, 181 mmol). La solución resultante se agitó durante 18 horas, mientras se calentaba lentamente a temperatura ambiente. La reacción se enfrió en un baño de hielo-agua, se interrumpió mediante la adición lenta de una solución acuosa 7 M de hidróxido potásico (30 ml) y se extrajo con éter metil-*terc*-butílico (200 ml x 2). La solución orgánica combinada se lavó con agua (25 ml x 2), salmuera (25 ml x 2), se secó (sulfato sódico), se filtró y se concentró a presión reducida. La purificación por cromatografía en columna ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de acetato de etilo en heptano dio 2-(4-clorobencil)-4-bromo-1-fluorobenceno (5,0 g, 35% de rendimiento) en forma de un aceite incoloro. RMN de ^1H (400 MHz, cloroformo- d) delta ppm 7,33-7,22 (m, 4H), 7,13 (d, $J = 8,4$ Hz, 2H), 6,93 (dd, $J = 9,2, 9,2$ Hz, 1H), 3,92 (s, 2H).

Preparación de intermedios**Preparación del intermedio ((2R,3R,4S,5R)-6-aliloxi-3,4,5-tris-benciloxi-tetrahidro-piran-2-il)-metanol ((I-1a):**

- 45 Una suspensión de D-glucosa (1,2 kg, 6,6 mol), ácido trifluorometanosulfónico (12 ml) y alcohol alílico (5 l) se calentó a 80°C durante 3 días. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, los volátiles se retiraron al vacío y el residuo se disolvió en *N,N*-dimetilformamida (8 l). Éste se dividió en cuatro reacciones iguales y a cada una se le añadieron cloruro de tritilo (463 g, 1,67 mol) y trietilamina (231 ml, 1,67 mol). Se observó una ligera exotermia mientras se añadía la trietilamina. La mezcla de reacción se agitó durante 2 días a 30°C y después cada reacción se dividió a la mitad, dando ocho reacciones iguales. A cada una de estas reacciones se le añadió cloruro de bencilo (300 ml, 2,60 mol), seguido de la adición en porciones de hidruro sódico (102,5 g, 2,60 mol) manteniendo la temperatura de la

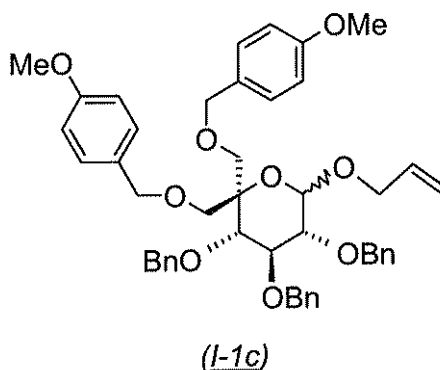
reacción entre 40 y 50°C. Después de que se completara la adición, las mezclas de reacción se agitaron a temperatura ambiente durante 20 horas. Después cada reacción se vertió en hielo/agua (2 l) y se extrajo con acetato de etilo (2,5 l). Las fases orgánicas de cada una de ellas se lavaron con salmuera saturada/agua (1:1, 2 x 2 l), se combinó y se secó sobre sulfato de magnesio (R_f del producto 0,85 en 3:1 de hexanos/acetato de etilo). Después de la filtración y la evaporación el residuo se disolvió en una mezcla de diclorometano (16 l) y metanol (4 l). La mezcla se dividió en 5 porciones iguales y a cada una se le añadió ácido sulfúrico (32 ml). Las reacciones se agitaron durante 3 horas, se lavaron con salmuera/solución acuosa 2 M de hidróxido sódico (1:1, 2 x 2 l), se combinaron y se secaron sobre sulfato de magnesio. Después de la filtración y la concentración al vacío, el residuo se purificó adicionalmente sobre gel de sílice eluyendo con acetato de etilo al 30% en tolueno para dar el compuesto intermedio (I-1a) en forma de una mezcla de anómeros (1,77 kg, 54% de rendimiento en D-glucosa). R_f 0,15 en 3:1 de hexanos/acetato de etilo.

Preparación del Intermedio ((3S,4S,5R)-6-aliloxi-3,4,5-tris-benciloxi-2-hidroximetil-tetrahidro-piran-2-il)-metanol (I-1b):



Una solución de dimetilsulfóxido (87 ml, 1,22 mol) en diclorometano (160 ml) se añadió gota a gota a una solución de cloruro de oxalilo (64,7 ml, 0,76 mol) en diclorometano (2,5 l) a -78°C. Después de que se completara la adición, se añadió gota a gota una solución del intermedio (I-1a) (287 g, 0,59 mol) en diclorometano (500 ml) a -78°C. Después de que se completara la adición, la mezcla de reacción se agitó durante 30 minutos y se añadió gota a gota trietilamina (417 ml, 2,9 mol). Después de que se completara la adición, la mezcla de reacción se dejó calentar a temperatura ambiente. Después la reacción se calentó con una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico (2 l) y agua (2 l) y después se secó sobre sulfato de magnesio. Este procedimiento de reacción se repitió en seis reacciones equivalentes y después del secado éstas se combinaron y se evaporaron para dar el aldehído en forma de un aceite de color amarillo (1,71 kg). Este aceite se disolvió en isopropanol (2,57 l) y se dividió en siete reacciones iguales. A cada una de ellas se le añadió una solución acuosa al 37% de formaldehído (0,79 l, 10 mol), seguido de la adición gota a gota de una solución de hidróxido sódico (32 g, 0,8 mol) en agua (130 ml). Después de que se completara la adición, la mezcla de reacción se agitó a temperatura ambiente durante 2 días. La mezcla de reacción se diluyó con salmuera (2 l) y se extrajo con acetato de etilo (2 l). La fase orgánica se lavó adicionalmente con una solución acuosa saturada de bicarbonato sódico (2 l) y salmuera (2 l) y después se secaron sobre sulfato de magnesio. Las fases orgánicas de las siete reacciones se combinaron, se evaporaron y el residuo se purificó sobre gel de sílice (eluyendo con 4 a 1 hasta 1 a 1 de hexanos en acetato de etilo), dando el compuesto intermedio (I-1b) en forma de una mezcla de anómeros (980 g, 53% de rendimiento en las dos etapas). R_f 0,57 y 0,60 en 1:1 de hexanos/acetato de etilo.

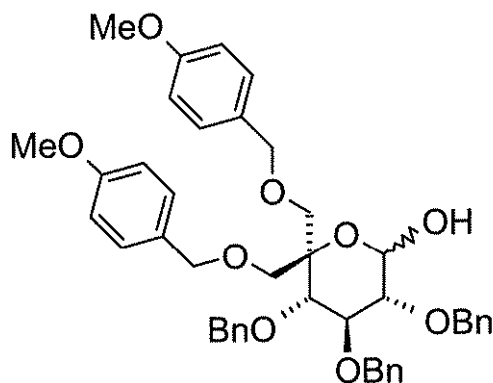
(3S,4S,5R)-6-aliloxi-3,4,5-tris-benciloxi-2,2-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidro-pirano (I-1c):



El diol de partida [((3S,4S,5R)-6-aliloxi-3,4,5-tris-benciloxi-2-hidroximetil-tetrahidro-piran-2-il)-metanol (I-1b): 10 g, 19,208 mmol] se disolvió en *N,N*-dimetilformamida (70 ml) y se enfrió a 0°C. Se añadió hidruro sódico (dispersión al 60% en aceite mineral, 1,69 g, 42,3 mmol) y la reacción se dejó en agitación a 0°C durante 1 hora antes de la adición de 1-bromometil-4-metoxi-benceno (5,96 ml, 40,3 mmol). Después, la reacción se calentó a 60°C durante toda una noche. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente y la reacción se interrumpió con agua y se extrajo con acetato de etilo (2 veces). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con agua y salmuera, se secaron sobre

sulfato sódico, se filtraron y se concentraron a presión reducida. Después, la reacción se cromatografió sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 0 al 80% en heptano), produciendo 7,55 g (52% de rendimiento) del producto (L-1c). EM 778,8 ($M + NH_4^+$; modo positivo).

(3R,4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidro-piran-2-ol (I-1d):



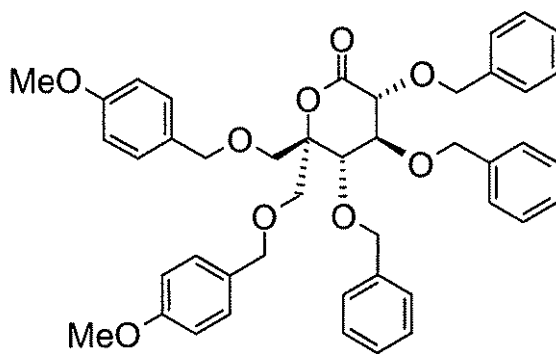
(I-1d)

5

A una solución del material de partida ((3S,4S,5R)-6-aliloxi-3,4,5-tris-benciloxi-2,2-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidro-pirano, (L-1c: 7,55 g, 9,92 mmol) en metanol (60 ml) y diclorometano (20 ml) a temperatura ambiente se le añadió cloruro de paladio (II) (528 mg, 2,98 mmol) y la mezcla resultante se agitó a esta temperatura durante 4 horas. TLC indicó la formación limpia de un producto más polar. La reacción se filtró a través de Celite® y se concentró a presión reducida. El material en bruto se cromatografió sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 0 al 80% en heptano, produciendo 5,6 g (78% de rendimiento) de producto (L-1 d). EM 738,8 ($M + NH_4^+$; modo positivo).

10

(3R,4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidro-piran-2-ona (I-1e):



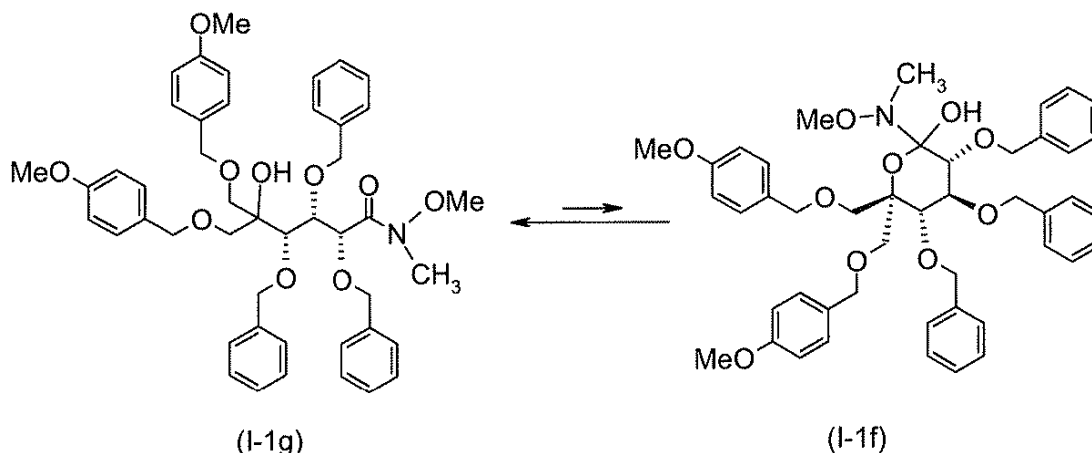
(I-1e)

15 A una solución de dicloruro de oxalilo (1,9 ml, 23 mmol) en diclorometano (65 ml) a -78°C se le añadió una solución de dimetilsulfóxido (3,3 ml, 47 mmol) en diclorometano (5 ml) y la solución resultante se agitó a esta temperatura durante 30 minutos. Después se añadió gota a gota una solución del material de partida ((3R,4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidro-piran-2-ol, (L-1d, 5,6 g, 7,7 mmol) en diclorometano (15,0 ml) y la mezcla resultante se agitó durante 30 minutos dejando que la temperatura aumentara hasta -60°C. Se añadió gota a gota trietilamina (9,7 ml, 69,5 mmol) y la mezcla se dejó calentar a 0°C durante 1 hora. La reacción se interrumpió mediante la adición de una solución acuosa saturada de cloruro de amonio y la fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El material en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 0 al 60% en heptano, produciendo el producto (L-1e) (4 g, 72% de rendimiento).

20

25 RMN de 1H (400 MHz, cloroformo- d) delta ppm 3,24 (d, $J = 10$ Hz, 1 H), 3,40 - 3,47 (m, 2 H), 3,74 (s, 3 H), 3,77 (s, 3 H), 3,86 (d, $J = 10$ Hz, 1 H), 4,07 (d, $J = 8,6$ Hz, 1 H), 4,15 (d, $J = 9,6$ Hz, 1 H), 4,35 - 4,55 (m, 6 H), 4,65 - 4,72 (m, 2 H), 4,82 (d, $J = 11$ Hz, 1 H), 4,87 (d, $J = 11,2$ Hz, 1 H), 5,10 (d, $J = 11,1$ Hz, 1 H), 6,74-6,79 (m, 2 H), 6,81 - 6,85 (m, 2 H), 7,11 (dd, $J = 7,0, 2,5$ Hz, 2 H), 7,17 - 7,41 (m, 17 H).

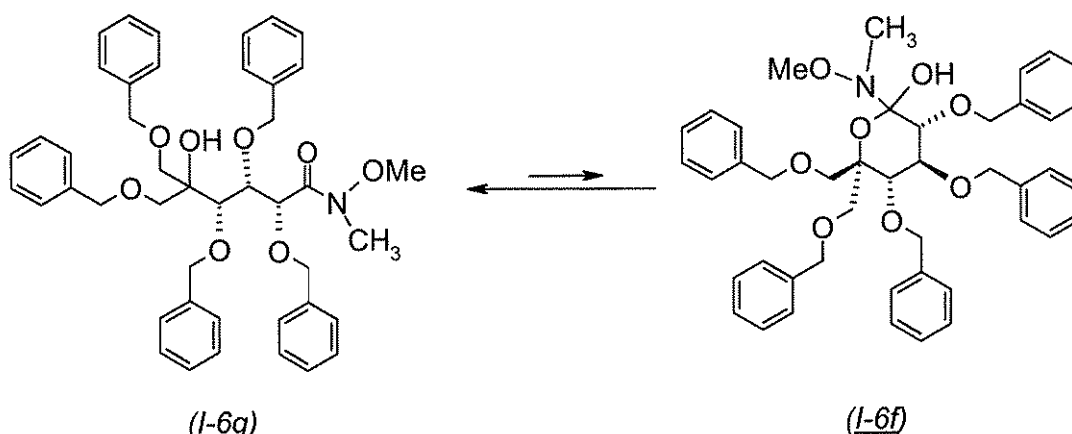
Metoxi-metil-amida del ácido (2R,3S,4S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-hidroxi-6-(4-metoxi-benciloxi)-5-(4-metoxi-benciloximetil)-hexanoico (I-1g) y/o (3R,4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-2-(metoxi-metil-amino)-tetrahidro-piran-2-ol (I-1f):



- 5 A una solución de la lactona ((3R,4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidro-piran-2-ona (I-1e: 10,4 g, 14,5 mmol) y clorhidrato de *N,O*-dimetilhidroxilamina (1,77 g, 29,0 mmol) en diclorometano (100 ml) a 0°C se le añadió gota a gota una solución 2,0 M de trimetil aluminio en hexanos (14,5 ml, 29,0 mmol) y la solución resultante se agitó a temperatura ambiente durante 16 horas. La mezcla de reacción se enfrió a 0°C y se inactivó mediante la adición lenta de una solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico. La mezcla resultante se dejó en agitación durante 1 hora. La fase orgánica se separó y se lavó con una solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró a presión reducida. El material en bruto se purificó por cromatografía a media presión (gradiente de acetato de etilo del 5 al 40% en heptano), produciendo 6,5 g (58%) de producto.

15 RMN de ^1H (400 MHz, cloroformo-*d*) delta ppm 2,62 (s a, 1 H), 2,94 (s a, 3 H), 3,23 (s a, 3 H), 3,42 (d, $J = 9,4$ Hz, 1 H), 3,50 - 3,60 (m, 3 H), 3,75 (s, 3 H), 3,77 (s, 3 H), 4,03 (d, $J = 6,9$ Hz, 1 H), 4,20 (dd, $J = 6,9, 3,3$ Hz, 1 H), 4,31 - 4,44 (m, 5 H), 4,46-4,51 (m, 2H), 4,53 (d, $J = 12$ Hz, 1 H), 4,66 (d, $J = 12$ Hz, 1 H), 4,80 (d a, $J = 11,5$ Hz, 1 H), 4,87 (d, $J = 11,4$ Hz, 1 H), 6,77 - 6,83 (m, 4 H), 7,15 - 7,35 (m, 19 H). $[\text{M}+\text{H}^+]$ 780,8, modo positivo; $[\text{M}+\text{HCO}_2^-]$ 824,7, modo negativo). EMAR calculado para $\text{C}_{46}\text{H}_{54}\text{NO}_{10}$ ($\text{M}+\text{H}^+$) 780,3742, encontrado 780,3708.

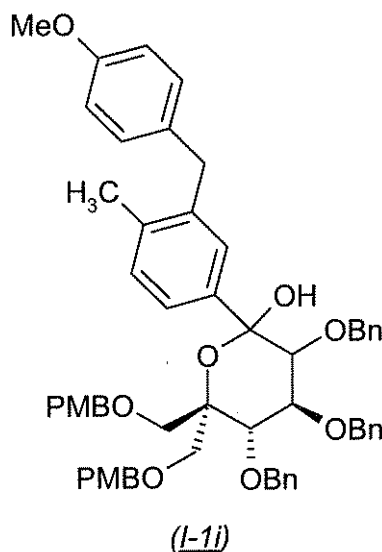
Metoxi-metil-amida de ácido (2R,3S,4S)-2,3,4,6-tetraquis-benciloxi-5-benciloximetil-5-hidroxi-hexanoico (I-6g) y/o (3R,4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-6,6-bis-benciloximetil-2-(metoxi-metil-amino)-tetrahidro-piran-2-ol (I-6f):



- 20 Este compuesto se preparó partiendo de (((3S,4S,5R)-6-aliloxi-3,4,5-tris-benciloxi-2- hidroximetil-tetrahidro-piran-2-il)-metanol (I-1b) usando un procedimiento similar al descrito para la síntesis de metoxi-metil-amida del ácido (2R,3S,4S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-hidroxi-6-(4-metoxi-benciloxi)-5-(4-metoxi-benciloximetil)-hexanoico (I-1g) y/o (3R,4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-2-(metoxi-metil-amino)-tetrahidro-piran-2-ol (I-1f) con la excepción de que el agente de alquilación usando en la parte experimental que describe la conversión de (I-1b) en (I-1c) fue bromuro de bencilo en lugar de bromuro de *para*-metoxibencilo.

30 RMN de ^1H (400 MHz, cloroformo-*d*) delta ppm 2,66 (s a, 1 H), 2,94 (s a, 3 H), 3,23 (s a, 3 H), 3,48 (d, $J = 9,4$ Hz, 1 H), 3,55 - 3,66 (m, 3 H), 4,05 (d, $J = 6,9$ Hz, 1 H), 4,21 (dd, $J = 6,9, 3,3$ Hz, 1 H), 4,36 (d, 1H, $J = 11,7$ Hz), 4,41 - 4,58 (m, 7 H), 4,68 (d, $J = 11,9$ Hz, 1 H), 4,81 (d a, $J = 11,5$ Hz, 1 H), 4,89 (d, $J = 11,5$ Hz, 1 H), 7,15 - 7,35 (m, 25 H). EM $[\text{M}+\text{H}^+]$ 720,7, modo positivo; $[\text{M}+\text{HCO}_2^-]$ 764,7, modo negativo).

(4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-2-[3-(4-metoxi-bencil)-4-metil-fenil]-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidropiran-2-ol (I-1i):

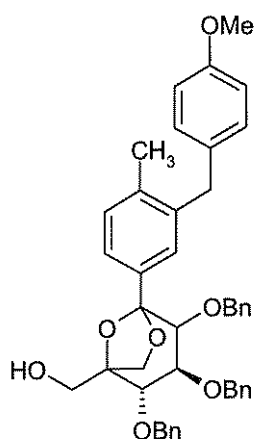


(I-1i)

- Se añadió gota a gota (1 gota cada 5 segundos) n-butilitio (0,97 ml, 2,5 M/hexanos, 3,15 equivalentes) a una solución desgasificada con oxígeno (situada en un vial para microondas Biotage™ presecado de 10-20 ml sellado con su tapa y colocado en una corriente positiva de gas nitrógeno) de 4-bromo-2-(4-metoxi-bencil)-1-metil-benceno (690 mg, 3 equivalentes) en tetrahidrofurano anhidro (2,7 ml) a -78°C y la solución resultante se agitó a esta temperatura durante una hora adicional. Después se añadió gota a gota una solución de metoxi-metil-amida del ácido (2R,3S,4S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-hidroxi-6-(4-metoxi-benciloxi)-5-(4-metoxi-benciloximetil)-hexanoico (I-1g) (608 mg) en tetrahidrofurano anhidro (1,35 ml) durante 1,5 horas usando una bomba de jeringa y la mezcla resultante se agitó a -78°C durante 1 hora antes de dejarse calentar a -20°C durante 14 horas (situada en un Dewar profundo cubierto con papel de aluminio para mantener la temperatura fría; tamaño del Dewar: diámetro externo 10 cm, diámetro interno 8 cm, altura 9 cm). Se añadió éter dietílico y la reacción se interrumpió mediante la adición gota a gota de una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico. La mezcla bifásica resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. La cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo del 20 al 50% en heptano dio el producto en forma de una mezcla de isómeros (440 mg, 61% de rendimiento).

EMAR calculado para C₅₉H₆₂O₁₀Na (M+Na⁺) 953,4235, encontrado 953,4236.

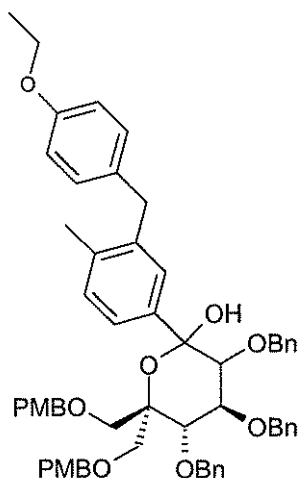
{(2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-[3-(4-metoxi-bencil)-4-metil-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il}-metanol (I-1k):



(I-1k)

- A una solución del intermedio I-1i (150 mg) en diclorometano (3 ml) se le añadió anisol (90 microlitros, 5 equivalentes) seguido de 3 ml de una solución de ácido trifluoroacético al 20% en diclorometano y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 1 hora. La mezcla se concentró y el producto en bruto se cromatografió sobre gel de sílice (usando un gradiente de acetato de etilo del 10 al 30% en heptano), proporcionando el producto deseado en forma de una mezcla de isómeros (66 mg, 61% de rendimiento). EM (EMBR) 673,9 (M+H⁺; modo positivo).

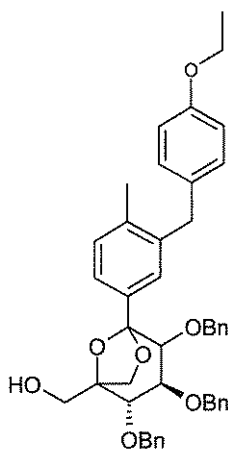
(4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-2-[3-(4-etoxi-bencil)-4-metil-fenil]-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidropiran-2-ol (I-2i):



(I-2i)

Se añadió gota a gota (1 gota cada 5 segundos) *n*-butilitio (0,312 ml, 2,5 M/hexanos, 3,05 equivalentes) a una solución desgasificada con oxígeno (situada en un vial para microondas Biotage™ presecado de 10-20 ml sellado con su tapa y colocado en una corriente positiva de gas nitrógeno) de 4-bromo-2-(4-etoxi-bencil)-1-metil-benceno (238 mg, 3,05 equivalentes) en tetrahidrofurano anhidro (0,9 ml) a -78°C y la solución resultante se agitó a esta temperatura durante una hora más. Después, se añadió gota a gota una solución de metoxi-metil-amida del ácido (2R,3S,4S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-hidroxi-6-(4-metoxi-benciloxi)-5-(4-metoxi-benciloximetil)-hexanoico (I-1g) (200 mg) en tetrahidrofurano anhidro (0,6 ml) durante 1,5 horas usando una bomba de jeringa y la mezcla resultante se agitó a -78°C durante 1 hora antes de dejarse calentar a temperatura ambiente durante 16 horas (situada en un Dewar profundo cubierto con papel de aluminio para mantener la temperatura fría; tamaño del Dewar: diámetro externo 10 cm, diámetro interno 8 cm, altura 9 cm). Se añadió éter dietílico y la reacción se interrumpió mediante la adición gota a gota de una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico. La mezcla bifásica resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. El material en bruto se cromatografió usando la unidad de cromatografía automatizada Biotage™ (dos columnas de gel de sílice de 10 g apiladas; eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 0 al 60% en heptano), dando el producto en forma de una mezcla de isómeros (136 mg, 56% de rendimiento). EM (EMBR) 968 (M+Na⁺; modo positivo).

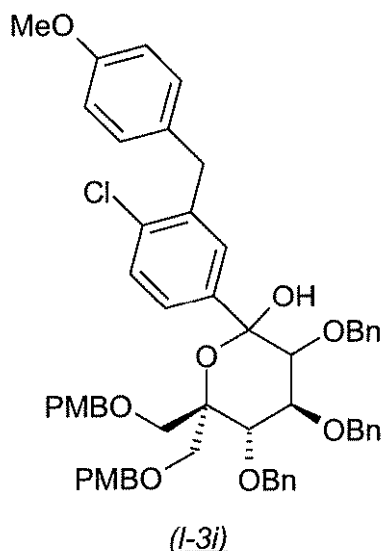
{(2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-[3-(4-etoxi-bencil)-4-metil-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il}-metanol (I-2k):



(I-2k)

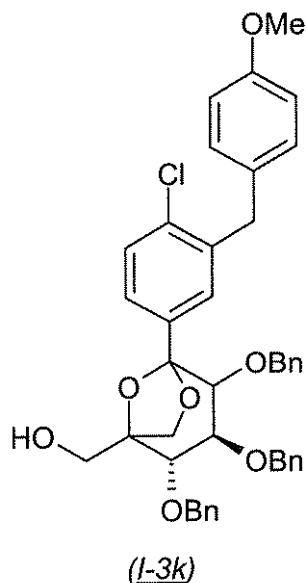
A una solución del intermedio I-2i (136 mg, 0,145 mmol) en diclorometano (4 ml) se le añadió anisol (310 microlitros, ~5 equivalentes) seguido de 4 ml de una solución de ácido trifluoroacético al 20% en diclorometano y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas. La mezcla se concentró y el producto en bruto se cromatografió usando la unidad de cromatografía automatizada ISCO™ combiflash® companion® (columna de gel de sílice de 4 g) eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 0 al 70% en heptano, produciendo el producto deseado en forma de una mezcla de isómeros (85 mg, 85% de rendimiento). EM (EMBR) 687,7 (M+H⁺; modo positivo).

(4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-2-[4-cloro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidropiran-2-ol (I-3i):



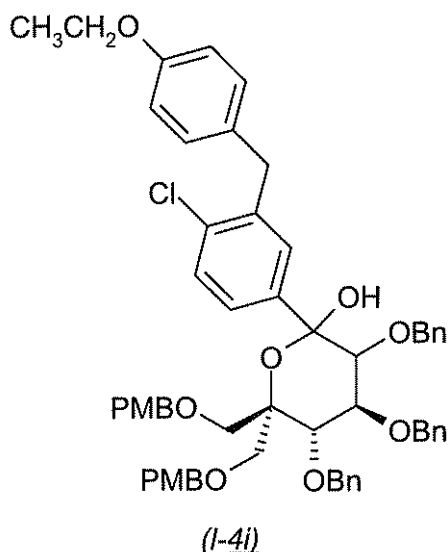
- 5 Se añadió gota a gota (1 gota cada 5 segundos) *n*-butillitio (0,97 ml, 2,5 M/hexanos, 3,15 equivalentes) a una solución desgasificada con oxígeno (situada en un vial para microondas Biotage™ presecado de 10-20 ml sellado con su tapa y colocado en una corriente positiva de gas nitrógeno) de 4-bromo-1-cloro-2-(4-metoxi-bencil)-benceno (725 mg, 2,95 equivalentes) en tetrahidrofurano anhidro (2,7 ml) a -78°C y la solución resultante se agitó a esta temperatura durante una hora adicional. Después se añadió gota a gota una solución de metoxi-metil-amida del ácido (2R,3S,4S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-hidroxi-6-(4-metoxi-benciloxi)-5-(4-metoxi-benciloximetil)-hexanoico (I-1g)
- 10 (616 mg) en tetrahidrofurano anhidro (1,35 ml) durante 1,5 horas usando una bomba de jeringa y la mezcla resultante se agitó a -78°C durante 1 hora antes de dejarse calentar a -20°C durante 14 horas (situada en un Dewar profundo cubierto con papel de aluminio para mantener la temperatura fría; tamaño del Dewar: diámetro externo 10 cm, diámetro interno 8 cm, altura 9 cm). Se añadió éter dietílico y la reacción se interrumpió mediante la adición gota a gota de una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico. La mezcla bifásica resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. La cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo del 10 al 40% en heptano dio el producto en forma de una mezcla de isómeros (530 mg, 71% de rendimiento).
- 15

{{(2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-[4-cloro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il}-metanol (I-3k):



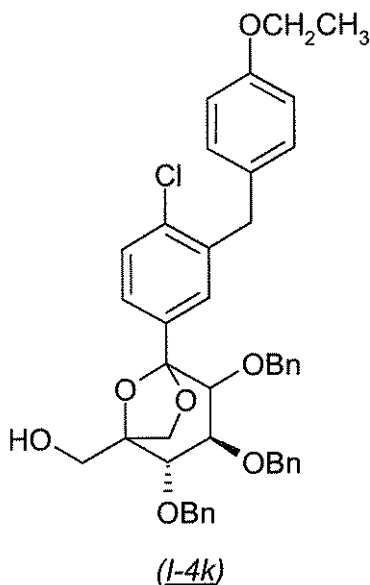
- 20 A una solución del intermedio I-3i (530 mg) en diclorometano (11 ml) se le añadió anisol (300 microlitros, 5 equivalentes) seguido de 11 ml de una solución de ácido trifluoroacético al 20% en diclorometano y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla se concentró y el producto en bruto se cromatografió sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo del 10 al 40% en heptano, produciendo el producto en forma de una mezcla de isómeros (229 mg, 59% de rendimiento). EM (EMBR) 693,6 (M+H⁺; modo positivo).
- 25

(4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-2-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidropiran-2-ol (I-4i):



Se añadió gota a gota *n*-butilitio (1 gota cada 5 segundos) (1,0 ml, 2,5 M/hexanos, 3,25 equivalentes) a una solución desgasificada con oxígeno (situada en un vial para microondas Biotage™ presecado de 10-20 ml sellado con su tapa y colocado en una corriente positiva de gas nitrógeno) de 4-bromo-1-cloro-2-(4-etoxi-bencil)-benceno (815 mg, 3,25 equivalentes) en tetrahidrofurano anhidro (2,9 ml) a -78°C y la solución resultante se agitó a esta temperatura durante una hora adicional. Después se añadió gota a gota una solución de metoxi-metil-amida del ácido (2R,3S,4S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-hidroxi-6-(4-metoxi-benciloxi)-5-(4-metoxi-benciloximetil)-hexanoico (I-1g) (600 mg) en tetrahidrofurano anhidro (1,45 ml) durante 1,3 horas usando una bomba de jeringa y la mezcla resultante se agitó a -78°C durante 1 hora antes de dejarse calentar a -25°C durante 14 horas (situada en un Dewar profundo cubierto con papel de aluminio para mantener la temperatura fría; tamaño del Dewar: diámetro externo 10 cm, diámetro interno 8 cm, altura 9 cm). Se añadió éter dietílico y la reacción se interrumpió mediante la adición gota a gota de una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico. La mezcla bifásica resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. La cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo del 10 al 40% en heptano dio el producto en forma de una mezcla de isómeros (280 mg, 38% de rendimiento). EMAR calculado para C₅₉H₆₁O₁₀ClNa (M+Na⁺) 987,3845, encontrado 987,3840.

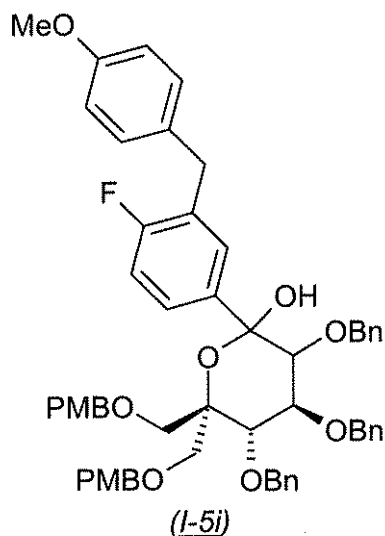
{(2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-6,6-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il}-metanol (I-4k):



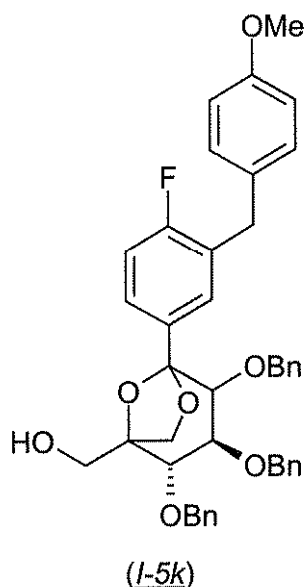
A una solución del intermedio I-4i (1,46 g) en diclorometano (31 ml) se le añadió anisól (900 microlitros, ~5 equivalentes) seguido de 31 ml de una solución de ácido trifluoroacético al 20% en diclorometano y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. La mezcla se concentró y el producto en bruto se cromatografió sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo del 10 al 30% en heptano, produciendo el producto en forma de una mezcla de isómeros (670 mg, 63% de rendimiento). EMAR calculado para C₄₃H₄₄O₇Cl

(M+H⁺) 707,2770, encontrado 707,2765.

(4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-2-[4-fluoro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidropiran-2-ol (I-5i);



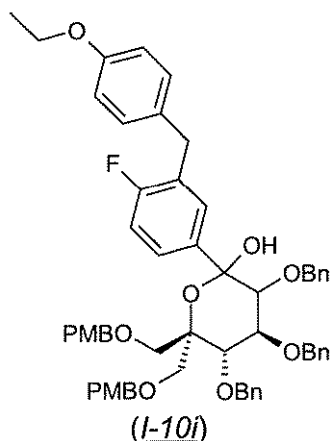
- 5 Se añadió gota a gota (1 gota cada 5 segundos) *n*-butilitio (462 microlitros, 2,5 M/hexanos, 3,0 equivalentes) a una solución desgasificada con oxígeno (situada en un vial para microondas Biotage™ presecado de 10-20 ml sellado con su tapa y colocado en una corriente positiva de gas nitrógeno) de 4-bromo-1-fluoro-2-(4-metoxi-bencil)-benceno (341 mg, 3 equivalentes) en tetrahidrofurano anhidro (1,4 ml) a -78°C en atmósfera de nitrógeno. La solución resultante se agitó a esta temperatura durante 1 hora. Después se añadió gota a gota muy lentamente (1 gota cada 5 segundos) una solución de metoxi-metil-amida del ácido (2R,3S,4S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-hidroxi-6-(4-metoxi-benciloxi)-5-(4-metoxi-benciloximetil)-hexanoico (I-1g) (300 mg, 0,385 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (0,70 ml) y la mezcla resultante se agitó a -78°C durante una hora adicional antes de calentarse a 10°C durante 12 horas (situada en un Dewar profundo cubierto con papel de aluminio para mantener la temperatura fría; tamaño del Dewar: diámetro externo 10 cm, diámetro interno 8 cm, altura 9 cm). La reacción se diluyó con éter dietílico y se interrumpió mediante la adición gota a gota de una solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico. La mezcla bifásica resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 10 al 40% en heptano), proporcionando el producto en forma de una mezcla de isómeros (199 mg, 55% de rendimiento).
- 20 **{{(2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-[4-fluoro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-6,6-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il)-metanol (I-5k):**



A una solución de (4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-2-[4-fluoro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-

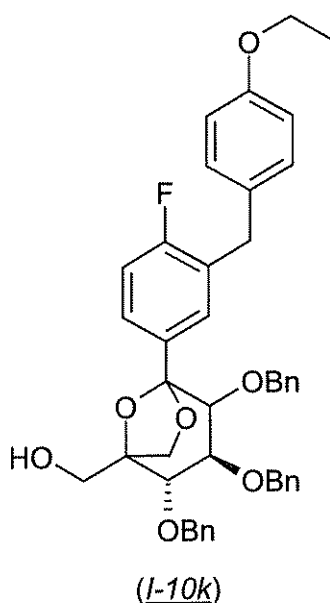
- 5 tetrahidro-piran-2-ol (**I-5i**: 191 mg, 0,204 mmol) en diclorometano (3,75 ml) se añadió anisol (0,178 ml, 1,63 mmol) seguido de una solución al 20% de ácido trifluoroacético en diclorometano (3,75 ml) a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. Después de agitar durante 1 hora a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 10 al 30% en heptano), produciendo el producto en forma de una mezcla de isómeros (115 mg, 83% de rendimiento). EM (EMBR) 677,7 ($M+H^+$; modo positivo).

(4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-2-[3-(4-etoxi-bencil)-4-fluoro-fenil]-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidro-piran-2-ol (I-10i**)**



- 10 Se añadió gota a gota (1 gota cada 5 segundos) *n*-butilitio {508 microlitros, 2,5 M/hexanos, 3,0 equivalentes) a una solución desgasificada con oxígeno de 4-bromo-2-(4-etoxi-bencil)-1-fluoro-benceno (392,0 mg, 1,27 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (1,5 ml) a -78°C en atmósfera de nitrógeno. La solución resultante se agitó a esta temperatura durante 1 hora. Después se añadió gota a gota muy lentamente (1 gota cada 5 segundos) una solución de metoxi-metil-amida del ácido (2R,3S,4S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-hidroxi-6-(4-metoxi-benciloxi)-5-(4-metoxi-benciloximetil)-hexanoico **I-1g** (330,0 mg, 0,423 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (0,75 ml) y la mezcla resultante se agitó a -78°C durante una hora adicional antes de calentarse a 10°C durante 12 horas (situada en un Dewar profundo cubierto con papel de aluminio para mantener la temperatura fría). La reacción se diluyó con éter dietílico y se interrumpió mediante la adición gota a gota de una solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico. La mezcla bifásica resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 10 al 40% en heptano), produciendo el producto en forma de una mezcla de isómeros (180 mg, 44% de rendimiento).

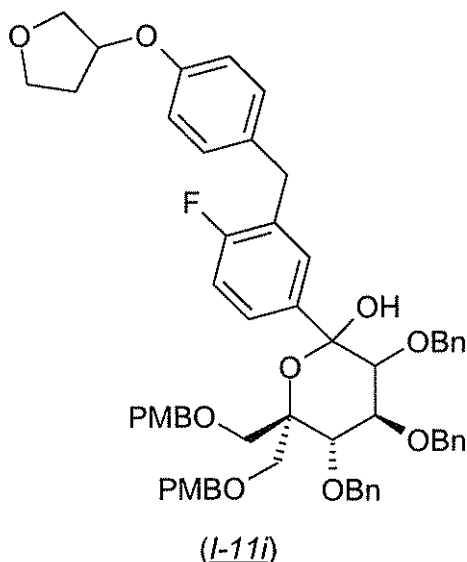
{(2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-[3-(4-etoxi-bencil)-4-fluoro-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il)-metanol (I-10k**)**



- 25 A una solución del intermedio **I-10i** (180,0 mg, 0,19 mmol) en diclorometano (2,0 ml) se le añadió anisol (0,175 ml, 1,60 mmol) seguido de una solución al 20% de ácido trifluoroacético en diclorometano (2,0 ml) a temperatura

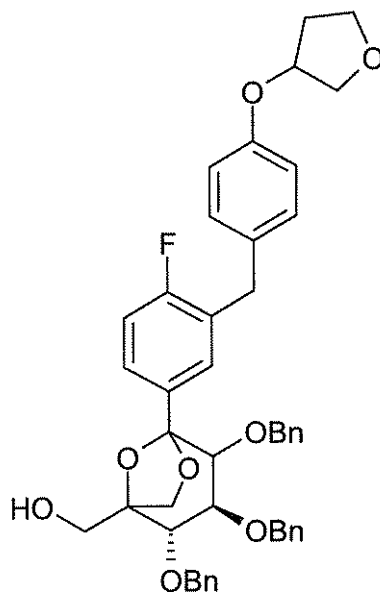
ambiente en atmósfera de nitrógeno. Después de agitar durante 1 hora, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 10 al 30% en heptano), proporcionando el producto en forma de una mezcla de isómeros (85,0 mg, 64% de rendimiento).

5 **(4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-2-{4-fluoro-3-[4-(tetrahydro-furan-3-iloxi)-bencil]-fenil}-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidro-piran-2-ol (I-11i)**



Se añadió gota a gota (1 gota cada 5 segundos) *n*-butilitio (1,0 ml, 2,5 M/hexanos, 3,0 equivalentes) a una solución desgasificada con oxígeno de 3-[4-(5-bromo-2-fluoro-bencil)-fenoxi]-tetrahydro-furano (878 mg, 2,50 mmol) en tetrahydrofurano anhidro (3,0 ml) a -78°C y la solución resultante se agitó a esta temperatura durante 1 hora. Después se añadió gota a gota muy lentamente (0,9 ml/hora) una solución de metoxi-metil-amida del ácido (2R,3S,4S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-hidroxi-6-(4-metoxi-benciloxi)-5-(4-metoxi-benciloximetil)-hexanoico I-1g (650 mg, 0,833 mmol) en tetrahydrofurano anhidro (1,5 ml) y la mezcla resultante se agitó a -78°C durante una hora adicional antes de calentarse a 10°C durante 12 horas (situada en un Dewar profundo cubierto con papel de aluminio para mantener la temperatura fría). La reacción se diluyó con éter dietílico y se interrumpió mediante la adición gota a gota de una solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico. La mezcla bifásica resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 10 al 40% en heptano) proporcionando el producto en forma de una mezcla de isómeros (287 mg, 34% de rendimiento)

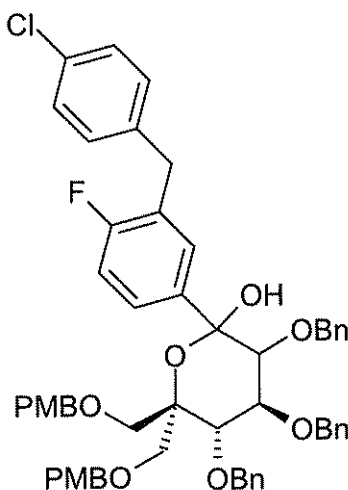
((2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-{4-fluoro-3-[4-(tetrahydro-furan-3-iloxi)-bencil]-fenil}-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il)-metanol (I-11k)



(I-11k)

- 5 A una solución de (4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-2-{4-fluoro-3-[4-(tetrahydro-furan-3-iloxi)-bencil]-fenil}-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahydro-piran-2-ol **(I-11i)** (275 mg, 0,28 mmol) en diclorometano (2,0 ml) se le añadió anisol (0,250 ml, 2,29 mmol) seguido de una solución al 20% de ácido trifluoroacético en diclorometano (8,0 ml) a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. Después de agitar durante 1 hora, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 10 al 30% en heptano), produciendo el producto en forma de una mezcla de isómeros (168 mg, 83% de rendimiento).

(4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-2-[3-(4-cloro-bencil)-4-fluoro-fenil]-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahydro-piran-2-ol (I-12i):

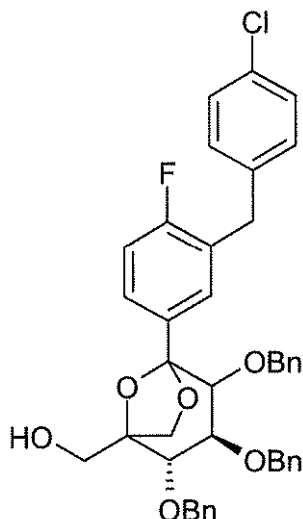


(I-12i)

- 15 Se añadió gota a gota (1 gota cada 5 segundos) *n*-butilitio (1,0 ml, 2,5 M/hexanos, 3,1 equivalentes) a una solución desgasificada con oxígeno (situada en un vial para microondas Biotage™ presecado de 10-20 ml sellado con su tapa y colocado en una corriente positiva de gas nitrógeno) de 4-bromo-2-(4-cloro-bencil)-1-fluoro-benceno (702 mg, 2,9 equivalentes) en tetrahydrofurano anhidro (3,0 ml) a -78°C y la solución resultante se agitó a esta temperatura durante 25 minutos. Después se añadió gota a gota una solución de metoxi-metil-amida del ácido (2R,3S,4S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-hidroxi-6-(4-metoxi-benciloxi)-5-(4-metoxi-benciloximetil)-hexanoico **(I-1g)** (621 mg) en tetrahydrofurano anhidro (1,5 ml) usando una bomba de jeringa (0,9 ml/hora) y la mezcla resultante se agitó a baja temperatura durante 17 horas adicionales (situada en un Dewar profundo cubierto con papel de aluminio para

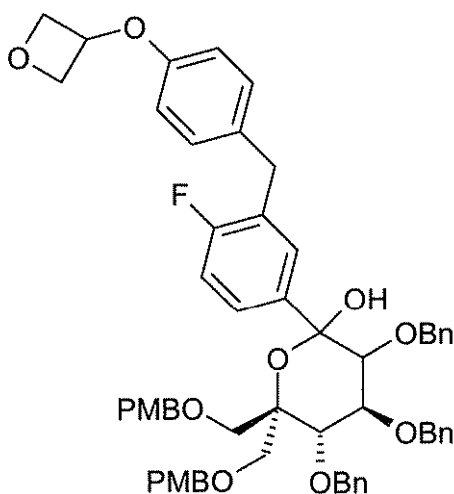
- 5 mantener la temperatura fría; tamaño del Dewar: diámetro externo 10 cm, diámetro interno 8 cm, altura 9 cm). La reacción se interrumpió mediante la adición gota a gota de una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico (1,5 ml). La mezcla bifásica resultante se agitó a temperatura ambiente durante 30 minutos. La mezcla se diluyó con cloruro de amonio acuoso saturado (15 ml) y se extrajo con acetato de etilo (15 ml x 3). La solución orgánica combinada se lavó con salmuera (30 ml), se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró. La cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo del 10 al 40% en heptano dio el producto en forma de una mezcla de isómeros (477 mg, 64% de rendimiento).

{(2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-[3-(4-cloro-bencil)-4-fluoro-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il}-metanol (I-12k):



(I-12k)

- 10 A una solución del intermedio I-12i (243 mg) en diclorometano (9 ml) se le añadió anisol (0,15 ml, 5,3 equivalentes) seguido de ácido trifluoroacético (1,0 ml, 50 equivalentes) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. La mezcla se concentró y el producto en bruto se cromatografió sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo del 10 al 30% en heptano, produciendo el producto en forma de una mezcla de isómeros (102 mg, 58% de rendimiento).
- 15 **(4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-2-{4-fluoro-3-[4-(oxetan-3-iloxi)-bencil]-fenil}-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidro-piran-2-ol (I-13i)**

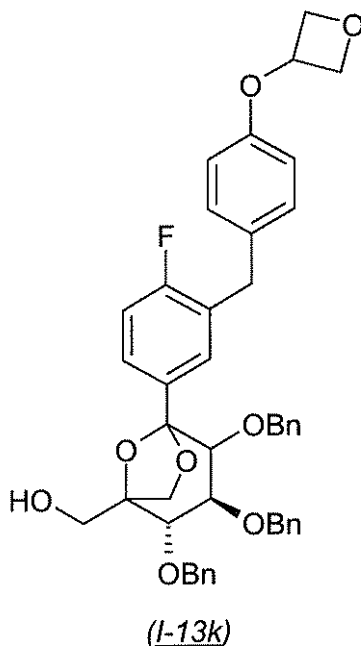


(I-13i)

- 20 Se añadió gota a gota (1 gota cada 5 segundos) *n*-butillitio (1,12 ml, 2,5 M/hexanos, 3,0 equivalentes) a una solución desgasificada con oxígeno de 3-[4-(5-bromo-2-fluoro-bencil)-fenoxi]-oxetano (942,0 mg, 2,79 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (3,0 ml) a -78°C y la solución resultante se agitó a esta temperatura durante 1 hora. Después, se añadió gota a gota muy lentamente (0,9 ml/hora) una solución de metoxi-metil-amida del ácido

(2R,3S,4S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-hidroxi-6-(4-metoxi-benciloxi)-5-(4-metoxi-benciloximetil)-hexanoico **1-1g** (725,0 mg, 0,930 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (1,5 ml) y la mezcla resultante se agitó a -78°C durante una hora adicional antes de calentarse a 10°C durante 12 horas (situada en un Dewar profundo cubierto con papel de aluminio para mantener la temperatura fría). La reacción se diluyó con éter dietílico y se interrumpió mediante la adición gota a gota de una solución acuosa 1 N de ácido clorhídrico. La mezcla bifásica resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 10 al 40% en heptano), proporcionando el producto en forma de una mezcla de isómeros (535 mg, 59% de rendimiento).

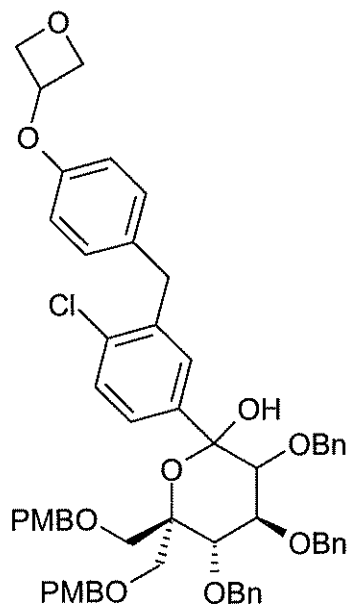
10 **((2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-{4-fluoro-3-[4-(oxetan-3-iloxi)-bencil]-fenil}-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il)-metanol (1-13k)**



A una solución de (4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-2-{4-fluoro-3-[4-(oxetan-3-iloxi)-bencil]-fenil}-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidro-piran-2-ol **1-13j** (535 mg, 0,548 mmol) en diclorometano (2,0 ml) se le añadió anisol (0,480 ml, 4,38 mmol) seguido de una solución al 20% de ácido trifluoroacético en diclorometano (8,0 ml) a temperatura ambiente en atmósfera de nitrógeno. Después de agitar durante 1 hora, la mezcla de reacción se concentró a presión reducida. El residuo en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 10 al 30% en heptano), produciendo el producto en forma de una mezcla de isómeros (300 mg, 76% de rendimiento).

20

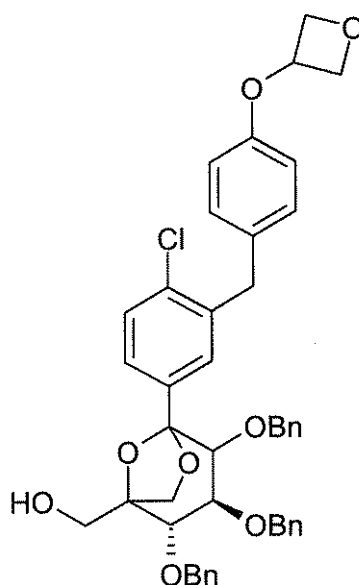
(4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-2-[4-cloro-3-[4-(oxetan-3-iloxi)-bencil]-fenil]-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidro-piran-2-ol (I-14i):



(I-14i)

- Se añadió gota a gota (1 gota cada 5 segundos) *n*-butilitio (0,97 ml, 2,5 M/hexanos, 3,15 equivalentes) a una solución desgasificada con oxígeno (situada en un vial para microondas Biotage™ presecado de 10-20 ml sellado con su tapa y colocado en una corriente positiva de gas nitrógeno) de 3-(4-(5-bromo-2-clorobencil)fenoxi)oxetano (824 mg, 2,95 equivalentes) en tetrahidrofurano anhidro (2,7 ml) a -78°C y la solución resultante se agitó a esta temperatura durante una hora adicional. Después se añadió gota a gota una solución de metoxi-metil-amida del ácido (2R,3S,4S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-hidroxi-6-(4-metoxi-benciloxi)-5-(4-metoxi-benciloximetil)-hexanoico (I-1g) (616 mg) en tetrahidrofurano anhidro (1,35 ml) durante 1,5 horas usando una bomba de jeringa y la mezcla resultante se agitó a -78°C durante 1 hora antes de dejarse calentar a -20°C durante 14 horas (situada en un Dewar profundo cubierto con papel de aluminio para mantener la temperatura fría; tamaño del Dewar: diámetro externo 10 cm, diámetro interno 8 cm, altura 9 cm). Se añadió éter dietílico y la reacción se interrumpió mediante la adición gota a gota de una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico. La mezcla bifásica resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. La fase orgánica se separó, se secó sobre sulfato sódico, se filtró y se concentró. La cromatografía sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo al 0-50% en heptano dio el producto en forma de una mezcla de isómeros (563 mg, 72% de rendimiento).

((2S,3S)-2,3,4-Tris-benciloxi-5-[4-cloro-3-[4-(oxetan-3-iloxi)-bencil]-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il)-metanol (I-14k):

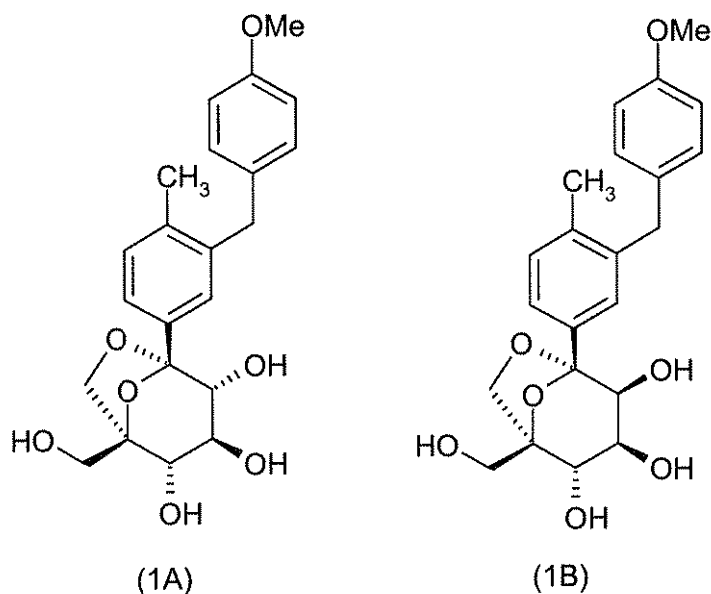


(I-14k)

A una solución del intermedio (4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-2-[4-cloro-3-[4-(oxetan-3-iloxi)-bencil]-fenil]-6,6-bis-(4-metoxi-benciloximetil)-tetrahidro-piran-2-ol I-14i (282 mg) en diclorometano (2,84 ml) se le añadió anisol (200 microlitros, ~7 equivalentes) seguido de 3,07 ml de una solución de ácido trifluoroacético al 20% en diclorometano y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 1,5 horas. La mezcla se concentró y el producto en bruto se cromatografió sobre gel de sílice usando un gradiente de acetato de etilo del 10 al 50% en heptano, proporcionando el producto en forma de una mezcla de isómeros (186 mg, 89% de rendimiento).

10 Ejemplo 1

(1S,2S,3S,4R,5S)-1-hidroximetil-5-[3-(4-metoxi-bencil)-4-metil-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (1A) y (1S,2S,3S,4S,5S)-1-hidroximetil-5-[3-(4-metoxi-bencil)-4-metil-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (1B):



15 A una solución de ((2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-[3-(4-metoxi-bencil)-4-metil-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il)-metanol (I-1k: 236 mg) en etanol/tetrahidrofurano (7 ml, 4/1 en volumen) se le añadieron sucesivamente ácido fórmico (270 microlitros, 19 equivalentes) y negro de paladio (150 mg, 4 equivalentes) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El paladio se filtró y la mezcla en bruto obtenida después de la evaporación

del disolvente se purificó por cromatografía sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 85 al 100% en heptano. La mezcla de productos obtenida se purificó por HPLC preparativa.

Procedimiento de HPLC preparativa: columna de fase inversa C18 phenomenex Luna 5 micrómetros 150 x 21,20 mm, 20 ml/minuto, gradiente de acetonitrilo/ácido fórmico al 0,1%:agua/ácido fórmico al 0,1%; del 20 al 60% de acetonitrilo/ácido fórmico al 0,1% durante 20 minutos. detección UV: 254 nm. La HPLC indicó una relación de diaestereoisómeros de 3:1 (1A:1B).

1A: (55 mg, 39% de rendimiento); R_t = 10,9 minutos; las fracciones que contenían el producto se concentraron a presión reducida. El material en bruto se precipitó en acetato de etilo y heptano. El sólido de color blanco resultante se lavó 2 veces con heptano y se secó a presión reducida. EM (EMBR) 403,3 ($M+H^+$; modo positivo) 447,3 ($M+HCO_2^-$; modo negativo).

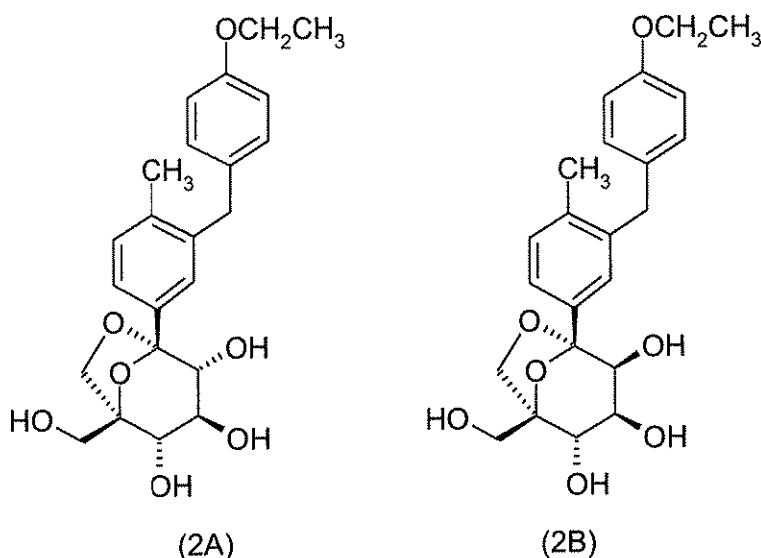
RMN de 1H (400 MHz, metanol- d_4) delta 7,33 (d, 1H, J = 1,6 Hz), 7,30 (dd, 1H, J = 7,6 and 1,6 Hz), 7,10 (d, 1H, J = 7,6 Hz), 7,02-6,98 (m, 2H), 6,79-6,75 (m, 2H), 4,13 (d, 1H, J = 7,4 Hz), 3,90 (s, 2H), 3,82 (d, 1H, J = 12,5 Hz), 3,77 (dd, 1H, J = 8,2 y 1,2 Hz), 3,72 (s, 3H), 3,66 (d, 1H, J = 12,5 Hz), 3,65 (t, 1H, J = 8,0 Hz), 3,59 (d, 1H, J = 7,8 Hz), 3,58 (dd, 1H, J = 7,5 y 1,5 Hz), 2,16 (s, 3H). EMAR calculado para $C_{22}H_{27}O_7$ ($M+H^+$) 403,1751, encontrado 403,1737.

1B: (20 mg, 14% de rendimiento); R_t = 11,5 minutos; las fracciones que contenían el producto se concentraron a presión reducida. El material en bruto se precipitó en acetato de etilo y heptano. El sólido de color blanco resultante se lavó 2 veces con heptano y se secó a presión reducida. EM (EMBR) 403 ($M+H^+$; modo positivo) 447 ($M+HCO_2^-$; modo negativo).

RMN de 1H (400 MHz, metanol- d_4) delta 7,38 (d, 1H, J = 1,8 Hz) 7,33 (dd, 1H, J = 7,9 y 1,8 Hz), 7,10 (d, 1H, J = 7,9 Hz), 7,02-6,97 (m, 2H), 6,79-6,74 (m, 2H), 4,02 (d, 1H, J = 7,4 Hz), 3,93 (t, 1H, J = 2,2 Hz), 3,91 (s, 2H), 3,88 (d, 1H, J = 12,5 Hz), 3,84 (d, 2H, J = 2,4 Hz), 3,75 (d, 1H, J = 12,5 Hz), 3,71 (s, 3H), 3,49 (d, 1H, J = 7,4 Hz), 2,16 (s, 3H).

Ejemplo 2

(1S,2S,3S,4R,5S)-5-[3-(4-etoxi-bencil)-4-metil-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (2A) y (1S,2S,3S,4S,5S)-5-[3-(4-etoxi-bencil)-4-metil-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (2B)



A una solución de {(2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-[3-(4-etoxi-bencil)-4-metil-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il}-metanol (**I-2k**: 85 mg, 0,12 mmol) en etanol/tetrahidrofurano (7 ml, -4/1 en volumen) se le añadieron sucesivamente ácido fórmico (95 microlitros, 19 equivalentes) y negro de paladio (53 mg, 4 equivalentes) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El paladio se filtró y la mezcla en bruto obtenida después de la evaporación del disolvente se purificó por HPLC preparativa.

Procedimiento de HPLC preparativa: columna de fase inversa C18 phenomenex Luna 5 micrómetros 150 x 21,20 mm, 20 ml/minuto, gradiente de acetonitrilo/ácido fórmico al 0,1%:agua/ácido fórmico al 0,1%; del 20 al 60% de acetonitrilo/ácido fórmico al 0,1% durante 20 minutos. detección UV: 254 nm. La HPLC indicó una relación de diaestereoisómeros de 4:1 (2A:2B).

2A: (20 mg; 38% de rendimiento) R_t = 12,7 minutos; las fracciones que contenían el producto se concentraron a presión reducida. El material en bruto se precipitó en acetato de etilo y heptano. El sólido de color blanco resultante se lavó 2 veces con heptano y se secó a presión reducida.

EM (EMBR) 417,3 ($M+H^+$; modo positivo); 461,4 ($M+HCO_2^-$; modo negativo). RMN de 1H (400 MHz, metanol- d_4)

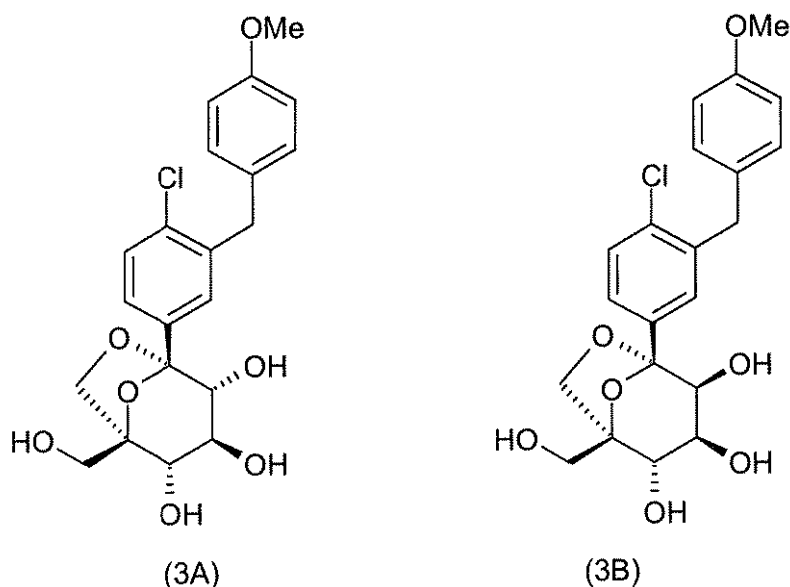
delta ppm 1,34 (t, $J = 6,9$ Hz, 3 H), 2,18 (s, 3 H), 3,60 (d, $J = 8$ Hz, 2 H), 3,66 (t, $J = 8$ Hz, 1 H), 3,68 (d, $J = 12,5$ Hz, 1 H), 3,78 (d, 1H, $J = 8,8$ Hz), 3,84 (d, $J = 12,4$ Hz, 1 H), 3,92 (s, 2 H), 3,97 (c, $J = 7$ Hz, 2 H), 4,15 (d, $J = 7,5$ Hz, 1 H), 6,77 (m, 2 H), 7,00 (m, 2 H), 7,12 (d, $J = 7,7$ Hz, 1 H), 7,31 (dd, $J = 7,9$ y 1,4 Hz, 1 H), 7,34 (s, 1 H).

2B: (5 mg; 9% de rendimiento) $R_t = 13,2$; minutos las fracciones que contenían el producto se concentraron a presión reducida. El material en bruto se precipitó en acetato de etilo y heptano. El sólido de color blanco resultante se lavó 2 veces con heptano y se secó a presión reducida.

EM (EMBR) 417,3 ($M+H^+$; modo positivo); 461,4 ($M+HCO_2^-$; modo negativo). RMN de 1H (400 MHz, metanol- d_4) delta ppm 1,34 (t, $J = 6,9$ Hz, 3 H), 2,18 (s, 3 H), 3,52 (d, 1H, $J = 7,4$ Hz), 3,77 (d, $J = 12,5$ Hz, 1 H), 4,00-3,84 (m, 8 H), 4,04 (d, $J = 7,4$ Hz, 1 H), 6,79-6,75 (m, 2 H), 7,03-6,98 (m, 2 H), 7,12 (d, $J = 7,9$ Hz, 1 H), 7,35 (dd, $J = 7,7$ y 1,9 Hz, 1 H), 7,39 (d, $J = 1,9$ Hz, 1 H).

Ejemplo 3

(1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (3A) y (1S,2S,3S,4S,5S)-5-[4-cloro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (3B):



A una solución de {(2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-[4-cloro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il}-metanol (**1-3k**: 229 mg) en etanol/tetrahidrofurano (7 ml, 4/1 en volumen) se le añadieron sucesivamente ácido fórmico (270 microlitros, 20 equivalentes) y negro de paladio (140 mg, 4 equivalentes) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente. Después de 1 hora, se añadieron más cantidad de ácido fórmico (270 microlitros, 20 equivalentes) y negro de paladio (140 mg, 4 equivalentes) y la mezcla se dejó en agitación durante una hora más a temperatura ambiente. El paladio se filtró y la mezcla en bruto obtenida después de la evaporación del disolvente se purificó por HPLC preparativa.

Procedimiento de HPLC preparativa: columna de fase inversa C18 phenomenex Luna 5 micrómetros 150 x 21,20 mm, 20 ml/minutos, gradiente de acetonitrilo/ácido fórmico al 0,1%:agua/ácido fórmico al 0,1%; del 20 al 60% de acetonitrilo/ácido fórmico al 0,1% durante 20 minutos. detección UV: 254 nm. La HPLC indicó una relación de diaestereoisómeros de 1,4:1 (3A:3B).

3A: (50 mg; 36% de rendimiento) $R_t = 12,1$ minutos; las fracciones que contenían el producto se concentraron a presión reducida. El material en bruto se precipitó en acetato de etilo y heptano. El sólido de color blanco resultante se lavó 2 veces con heptano y se concentró a presión reducida.

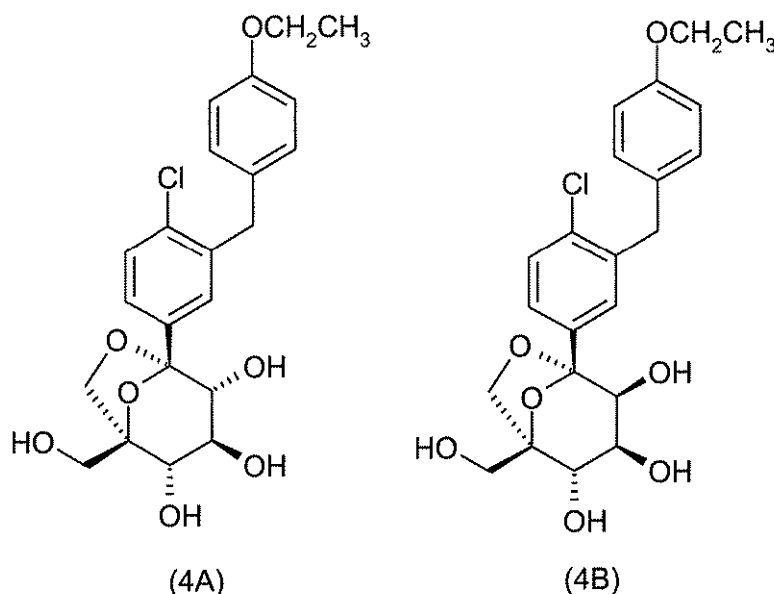
EM (EMBR) 423,3 ($M+H^+$; modo positivo); 467,3 ($M+HCO_2^-$; modo negativo). RMN de 1H (400 MHz, metanol- d_4) delta 7,43 (s, 1H), 7,38-7,30 (m, 2H), 7,08 (d, 2H), 6,79 (d, 2H), 4,12 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz), 4,01 (s, 2H), 3,81 (d, 1H, $J = 12,5$ Hz), 3,75 (d, 1H, $J = 8,4$ Hz), 3,73 (s, 3H), 3,66 (d, 1H, $J = 11,7$ Hz), 3,63 (t, 1H, $J = 8,2$ Hz), 3,57 (d, 1H, $J = 7,4$ Hz), 3,52 (d, 1H, $J = 7,8$ Hz). EMAR calculado para $C_{21}H_{24}O_7Cl$ ($M+H^+$) 423,1205, encontrado 423,1192.

3B: (37 mg; 27% de rendimiento) $R_t = 12,8$ minutos; las fracciones que contenían el producto se concentraron a presión reducida. El material en bruto se precipitó en acetato de etilo y heptano. El sólido de color blanco resultante se lavó 2 veces con heptano y se concentró a presión reducida.

EM (EMBR) 423,3 ($M+H^+$; modo positivo) 467,3 ($M+HCO_2^-$; modo negativo). RMN de 1H (400 MHz, metanol- d_4) delta 7,50 (d, 1H, $J = 1,9$ Hz) 7,42 (dd, 1H, $J = 8,3$ y 1,9 Hz), 7,35 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 7,12-7,07 (m, 2H), 6,83-6,78 (m, 2H), 4,06-4,01 (m, 3H), 3,91-3,83 (m, 4H), 3,78-3,72 (m, 4H), 3,51 (d, 1H, $J = 7,5$ Hz).

Ejemplo 4

(1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (4A) y (1S,2S,3S,4S,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (4B):



5

A una solución de {(2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il}-metanol (I-4k: 335 mg) en etanol/tetrahidrofurano (10 ml, 4/1 en volumen) se le añadieron sucesivamente ácido fórmico (420 microlitros, 22 equivalentes) y negro de paladio (208 mg, 4 equivalentes) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente. Después de 1 hora, se añadieron más cantidad de ácido fórmico (420 microlitros, 22 equivalentes) y negro de paladio (208 mg, 4 equivalentes) y la mezcla se dejó en agitación durante una hora más a temperatura ambiente. El paladio se filtró y la mezcla en bruto obtenida después de la evaporación del disolvente se purificó por HPLC preparativa.

10

HPLC preparativa: columna de fase inversa C18 Gemini 5 micrómetros 30 x 100 mm, 40 ml/minuto, gradiente de acetonitrilo/ácido fórmico al 0,1%:agua/ácido fórmico al 0,1%; acetonitrilo del 25 al 50%/ácido fórmico al 0,1% durante 18 minutos; detección UV: 220 nm. La HPLC indicó una relación de diastereómeros de 1,1:1 (4A:4B).

15

4A: (60 mg, 29% de rendimiento); R_t = 12,4 minutos; las fracciones que contenían el producto se concentraron a presión reducida. El material en bruto se precipitó en acetato de etilo y heptano. El sólido de color blanco resultante se lavó 2 veces con heptano y se secó a presión reducida.

20

EM (EMBR) 437,3 ($M+H^+$; modo positivo); 481,3 ($M+HCO_2^-$; modo negativo). RMN de 1H (400 MHz, metanol- d_4) delta 7,43 (d, 1H, J = 1,9 Hz), 7,36 (dd, 1H, J = 8,3 y 2 Hz), 7,32 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 7,08-7,04 (m, 2H), 6,79-6,75 (m, 2H), 4,12 (d, 1H, J = 7,5 Hz), 4,00 (s, 2H), 3,96 (c, 2H, J = 7,0 Hz), 3,81 (d, 1H, J * 12,5 Hz), 3,75 (dd, 1H, J = 8,3 y 1,3 Hz), 3,65 (d, 1H, J = 12,5 Hz), 3,63 (t, 1H, J = 8,2 Hz), 3,57 (dd, 1H, J = 7,5 y 1,3 Hz), 3,52 (d, 1H, J = 8,0 Hz), 1,33 (t, 3H, J = 6,9 Hz). EMAR calculado para $C_{22}H_{26}O_7Cl$ ($M+H^+$) 437,1361, encontrado 437,1360.

25

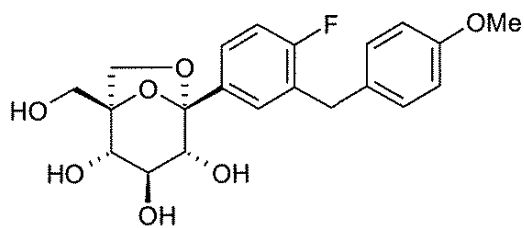
4B: (30 mg, 15% de rendimiento); R_t = 13,2 minutos; las fracciones que contenían el producto se concentraron a presión reducida. El material en bruto se precipitó en acetato de etilo y heptano. El sólido de color blanco resultante se lavó 2 veces con heptano y se secó a presión reducida.

30

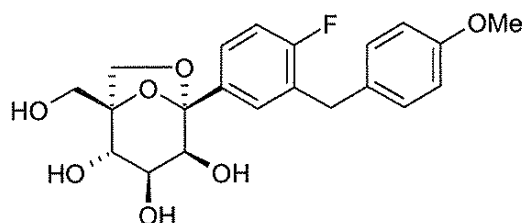
EM (EMBR) 437,3 ($M+H^+$; modo positivo) 481,3 ($M+HCO_2^-$; modo negativo). RMN de 1H (400 MHz, metanol- d_4) delta 7,48 (d, 1H, J = 1,9 Hz) 7,40 (dd, 1H, J * 8,1 y 1,9 Hz), 7,32 (d, 1H, J = 8,3 Hz), 7,08-7,03 (m, 2H), 6,80-6,74 (m, 2H), 4,04-3,99 (m, 3H), 3,95 (c, 2H, J = 7 Hz), 3,89-3,81 (m, 4H), 3,73 (d, 1H, J = 12,5 Hz), 3,49 (d, 1H, J = 7,3 Hz), 1,32 (t, 3H, J = 7 Hz). EMAR calculado para $C_{22}H_{26}O_7Cl$ ($M+H^+$) 437,1361, encontrado 437,1358.

Ejemplo 5

(1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-fluoro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (5A) y (1S,2S,3S,4S,5S)-5-[4-fluoro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (5B):



(5A)



(5B)

5

A una solución de {(2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-[4-fluoro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il}-metanol (115 mg, 0,170 mmol) en una solución 4:1 de etanol/tetrahidrofurano (10 ml) se le añadieron sucesivamente ácido fórmico (137 microlitros, 3,42 mmol) y negro de paladio (73 mg, 0,687 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente. Después de 3 horas, se añadieron más cantidad de ácido fórmico (137 microlitros, 3,42 mmol) y negro de paladio (73 mg, 0,687 mmol). Después de 18 horas, la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo en bruto resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente de metanol del 0 a 15% en diclorometano) para producir 64 mg de un sólido de color blanco. La mezcla de isómeros se purificó por HPLC preparativa.

10

Procedimiento de HPLC preparativa: columna de fase inversa C18 phenomenex Luna 5 micrómetros 150 x 21,20 mm, 20 ml/minuto, gradiente de acetonitrilo/ácido fórmico al 0,1%:agua/ácido fórmico al 0,1%; del 20 al 80% de acetonitrilo/ácido fórmico al 0,1% durante 20 minutos). detección UV: 254 nm. La HPLC indicó una relación de diastereómeros de 1:1 (5A:5B).

15

5A: (6 mg; 9% de rendimiento) R_t = 8,5 minutos; las fracciones que contenían el producto se concentraron a presión reducida. El material en bruto se precipitó en acetato de etilo y heptano. El sólido de color blanco resultante se lavó 2 veces con heptano y se secó a presión reducida.

20

RMN de ^1H (400 MHz, metanol- d_4) delta ppm 3,55 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 3,58 (dd, J = 7,5, 1,2 Hz, 1 H), 3,64 (t, J = 8,2 Hz, 1 H), 3,67 (d, J = 123 Hz, 1 H), 3,74 (s, 3 H), 3,77 (dd, J = 8,3, 1,2 Hz, 1 H), 3,83 (d, J = 12,5 Hz, 1 H), 3,91 (s, 2 H), 4,14 (d, J = 7,4 Hz, 1 H), 6,76 - 6,84 (m, 2 H), 7,02 (dd, J = 9,9, 8,3 Hz, 1 H), 7,09 - 7,13 (m, 2 H), 7,37 - 7,44 (m, 2 H); EM: 407,4 (M^+ H^+ ; modo positivo); 451,3 ($M+HCO_2^-$; modo negativo)

5B: (12 mg; 17% de rendimiento) R_t = 9 minutos; las fracciones que contenían el producto se concentraron a presión reducida. El material en bruto se precipitó en acetato de etilo y heptano. El sólido de color blanco resultante se lavó 2 veces con heptano y se secó a presión reducida.

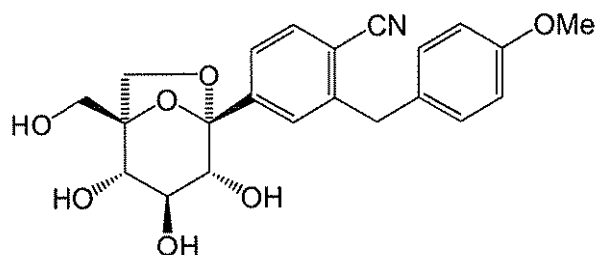
25

RMN de ^1H (400 MHz, metanol- d_4) delta ppm 3,51 (d, J = 7,4 Hz, 1 H), 3,74 (s, 3 H), 3,75 (d, 1H, J = 13 Hz), 3,83 - 3,93 (m, 6 H), 4,03 (d, J = 7,4 Hz, 1 H), 6,78 - 6,82 (m, 2 H), 7,02 (dd, J = 9,9, 8,5 Hz, 1 H), 7,09 - 7,13 (m, 2 H), 7,42 - 7,49 (m, 2 H); EM: 407,4 (M^+ H^+ ; modo positivo); 451,3 ($M+HCO_2^-$; modo negativo)

30

Ejemplo 6

2-(4-metoxibencil)-4-((1S,2S,3S,4R,5S)-2,3,4-trihidroxi-1-(hidroximetil)-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-5-il)-benzonitrilo (6A):



(6A)

35

Se añadió *n*-butillitio (1,04 ml, 2,6 mmol, 2,5 M en hexano) a una solución de bromuro de isopropil magnesio (1,27 ml, 1,27 mmol, 1 M en tetrahidrofurano) a 0°C. Después de agitar durante 30 minutos, la mezcla resultante se enfrió a -78°C y se añadió una solución de 4-bromo-2-(4-etoxi-bencil)-benzonitrilo (380 mg, 1,20 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (1 ml). La mezcla de color verdoso se agitó durante 1 hora a -78°C y se añadió muy lentamente (durante 20

minutos, 1 gota cada 5 segundos) una solución de metoxi-metil-amida del ácido (2R,3S,4S)-2,3,4,6-tetraquis-benciloxi-5-benciloximetil-5-hidroxi-hexanoico (1-6g) (700 mg, 0,972 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (2 ml). La solución se agitó a -78°C durante 1 hora y se calentó lentamente a temperatura ambiente durante 3 horas. La reacción se interrumpió mediante la adición gota a gota de una solución acuosa 1 M de ácido clorhídrico y después se diluyó con acetato de etilo. La mezcla bifásica resultante se agitó a temperatura ambiente durante 15 minutos. La fase orgánica se separó, se lavó con salmuera, se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró y se concentró, proporcionando el producto en bruto. El producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 0 al 20% en heptano, proporcionando el intermedio deseado 2-(4-etoxi-bencil)-4-((4S,5S)-3,4,5-tris-benciloxi-6,6-bis-benciloximetil-2-hidroxi-tetrahidro-piran-2-il)-benzonitrilo (300 mg; 34% de rendimiento). EM 918,8 (M+Na⁺, modo positivo).

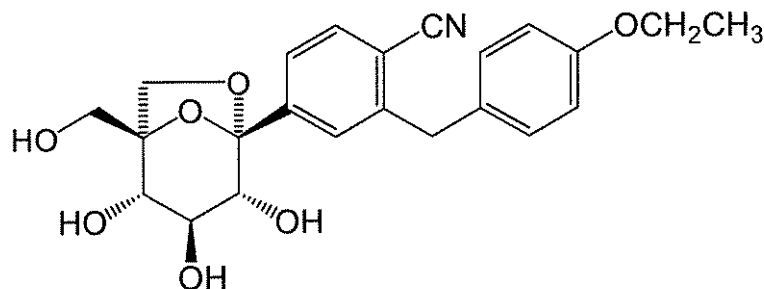
Se añadió tricloruro de boro (4,18 ml, 4,18 mmol, solución 1 M en hexano) a la solución del intermedio anterior (250 mg, 0,279 mmol) en CH₂Cl₂ (2 ml) a -78°C. La mezcla se agitó a -78°C durante 10 minutos y después se calentó a temperatura ambiente durante toda una noche. La mezcla se inactivó con agua (10 ml) y se extrajo con acetato de etilo (50 ml). La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se evaporó a sequedad. La purificación por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con metanol en diclorometano: 1 a 9 en volumen) dio el intermedio deseado 2-(4-Hidroxi-bencil)-4-((1S,2S,3S,4R,5S)-2,3,4-trihidroxi-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-5-il)-benzonitrilo (35 mg, 30% de rendimiento).

Se añadió carbonato potásico (28 mg, 0,2 mmol) a una solución del intermedio anterior (34 mg, 0,077 mmol) en acetona (0,4 ml), seguido de yodometano (7 microlitros, 0,11 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 45°C durante toda una noche. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (60 ml) y se lavó con agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se evaporó a sequedad. La purificación por cromatografía preparativa de capa fina sobre gel de sílice (eluyendo con metanol en diclorometano: 1 a 9 en volumen) permitió el aislamiento del producto deseado 6A (18 mg; 57% de rendimiento).

RMN de ¹H (400 MHz, metanol-*d*₄) delta 7,69 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7,61 (s, 1H), 7,56 (d, *J* = 8 Hz, 1H), 7,19-7,14 (m, 2H), 6,87-6,82 (m, 2H), 4,18 {6, *J* = 7,6 Hz, 1H), 4,14 (s, 2H), 3,86 (d, *J* = 12,7 Hz, 1H); 3,81 (d, *J* = 8,3 Hz, 1H), 3,76 (s, 3H), 3,69 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H), 3,67 (t, *J* = 8,1 Hz, 1H), 3,61 (d, *J* = 7,6 Hz, 1H), 3,54 (d, *J* = 8 Hz, 1H); EM 458,4 (M+HCO₂⁻; modo negativo).

Ejemplo 7

2-(4-etoxibencil)-4-((1S,2S,3S,4R,5S)-2,3,4-trihidroxi-1-hidroximetil)-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-5-il)-benzonitrilo (7A):



(7A)

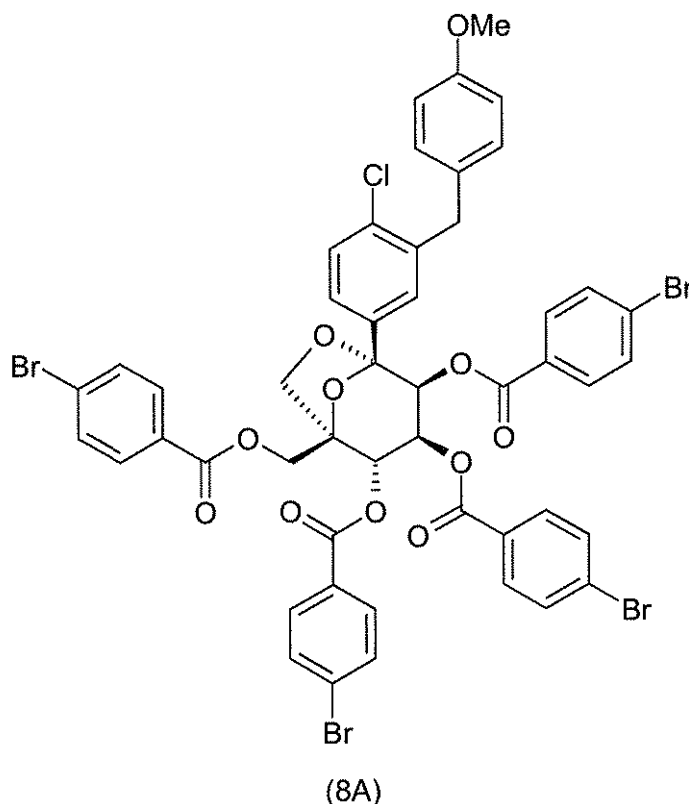
Se añadió carbonato potásico (8 mg, 0,058 mmol) a una solución del intermedio 2-(4-hidroxi-bencil)-4-((1S,2S,3S,4R,5S)-2,3,4-trihidroxi-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-5-il)-benzonitrilo (véase el ejemplo 6; 8,9 mg, 0,022 mmol) en acetona (0,4 ml), seguido de yodoetano (4 microlitros, 0,044 mmol) a temperatura ambiente. La mezcla se agitó a 45°C durante toda una noche. La mezcla se diluyó con acetato de etilo (60 ml) y se lavó con agua. La fase orgánica se secó sobre sulfato sódico y se evaporó a sequedad. La purificación por cromatografía preparativa de capa fina sobre gel de sílice (eluyendo con metanol en diclorometano: de 1 a 9 en volumen) permitió el aislamiento del producto deseado 7A (2,4 mg; 26% de rendimiento).

RMN de ¹H (metanol-*d*₄) delta 7,69 (d, *J* = 8,0 Hz, 1H), 7,61 (d, *J* = 1,5 Hz, 1H), 7,56 (dd, *J* = 8,0, 1,5 Hz, 1H), 7,17-7,13 (m, 2H), 6,86-6,81 (m, 2H), 4,18 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 4,14 (s, 2H), 4,01 (c, *J* = 7,0 Hz, 2H); 3,86 (d, *J* = 12,5 Hz, 1H); 3,80 (dd, *J* = 8,0 y 1,2 Hz, 1H), 3,70 (d, *J* = 11,7 Hz, 1H), 3,67 (t, *J* = 8,0 Hz, 1H), 3,61 (dd, *J* = 7,5 y 1,2 Hz, 1H), 3,54 (d, *J* = 7,8 Hz, 1H), 1,37 {t, *J* = 7,0 Hz, 3H); EM 472,1 (M+HCO₂⁻; modo negativo).

El Ejemplo 8 ilustra la preparación de un derivado cristalino del compuesto del Ejemplo 3B con el fin de confirmar la estructura y la estereoquímica del Ejemplo 3B.

Ejemplo 8

Por 4-bromobenzoilación de (1S,2S,3S,4S,5S)-5-[4-cloro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (3B) dando (8A):



- 5 A una solución de (1S,2S,3S,4S,5S)-5-[4-cloro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (3B) (11 mg, 0,026 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (600 microlitros) se le añadieron a temperatura ambiente *N,N*-diisopropiletilamina (32 microlitros, 7 equivalentes) y 4-dimetilaminopiridina (3 mg, 0,9 equivalentes) seguido de cloruro de *para*-bromobenzoilo (35 mg, 6 equivalentes) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante 62 horas. Se añadieron acetato de etilo y agua y la fase orgánica se lavó sucesivamente con una solución acuosa 0,5 M de ácido clorhídrico y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró, se concentró y el producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 15 al 30% en heptano, produciendo 27 mg de producto (90% de rendimiento).

- 10 RMN de ^1H (400 MHz, cloroformo-*d*) delta 7,82 (m, 2H), 7,74-7,64 (m, 4H), 7,58-7,46 (m, 8H), 7,42-7,34 (m, 4H), 7,29 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 6,89 (m, 2H), 6,63 (m, 2H), 6,04 (dd, 1H, $J = 9,6$ y 1 Hz), 5,98 (dd, 1H, $J = 9,6$ y 4,4 Hz), 5,89 (d, 1H, $J = 4,4$ Hz), 4,70 (d, 1H, $J = 12,4$ Hz), 4,65 (d, 1H, $J = 12,4$ Hz), 4,60 (d, 1H, $J = 8$ Hz), 3,98-3,88 (m, 3H), 3,73 (s, 3H).

- Se obtuvieron cristales únicos por técnicas de difusión de vapor usando heptano y acetato de etilo como disolventes. Punto de fusión = 191°C. Análisis por Rayos X de Cristal Único. Se estudió un cristal representativo y se recogió un conjunto de datos de 1 Å (seno máximo $\Theta/\lambda = 0,5$) en un difractómetro Bruker APEX II/R. Se recogieron pares de Friedel con el fin de facilitar la determinación de la configuración absoluta. Los factores de esparcimiento atómico se tomaron de las Tablas Internacionales para Cristalografía. Véase International Tables for Crystallography. Vol. C, páginas 219, 500, Kluwer Academic Publishers, 1992. Todos los cálculos cristalográficos se facilitaron por el sistema SHELXTL. Véase SHELXTL. Versión 5.1, Bruker AXS, (1997). Todos los datos del difractómetro se recogieron a temperatura ambiente. El cristal pertinente, la recogida de datos y el refinamiento se resumen en la Tabla 1 a continuación.

Tabla 1

Datos de cristal y refinamiento de estructura para el Ejemplo 8A.

Fórmula empírica	$\text{C}_{49}\text{H}_{35}\text{O}_{11}\text{Br}_4\text{Cl}$
Peso de la fórmula	1154,86
30 Temperatura	296(2) K
Longitud de onda	1,54178 Å
Sistema de cristalización	Monoclínico

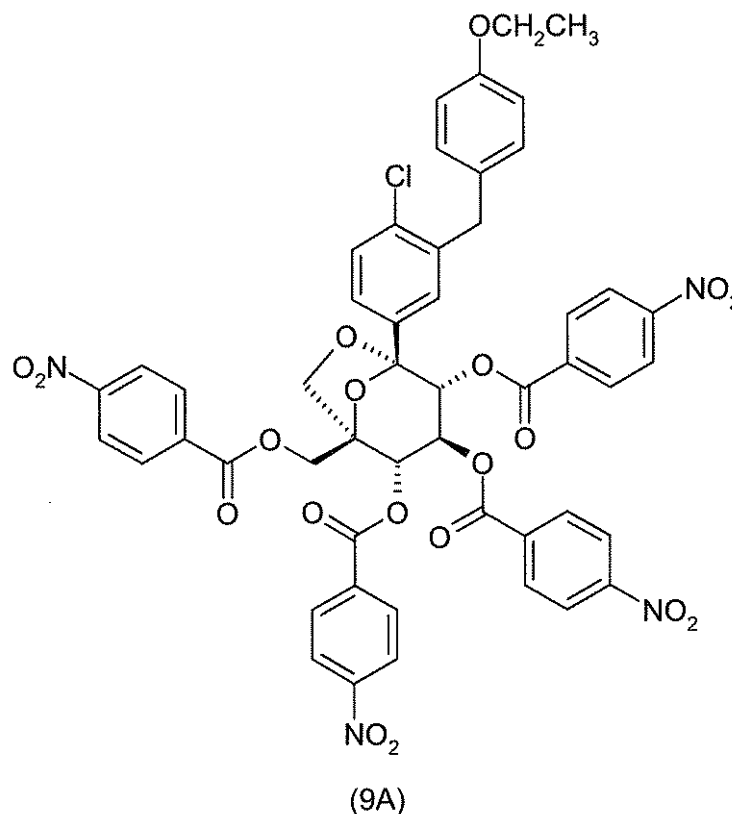
	Grupo espaciador	C2
	Dimensiones celulares unitarias	$a = 23,7485(6) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$.
		(continuación)
		$b = 6,3175(2) \text{ \AA}$ $\beta = 104,4910(10)^\circ$.
5		$c = 32,3167(8) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$.
	Volumen	$4694,3(2) \text{ \AA}^3$
	Z	4
	Densidad (calculada)	$1,634 \text{ Mg/m}^3$
	Coefficiente de absorción	$5,216 \text{ mm}^{-1}$
10	F(000)	2296
	Tamaño del cristal	$0,12 \times 0,03 \times 0,02 \text{ mm}^3$
	Intervalo de theta para la recogida de datos	de $3,75$ a $50,43^\circ$.
	Reflejos recogidos	8339
	Reflejos independientes	3932 [$R(\text{int}) = 0,0491$]
15	Complejidad para theta = $50,43^\circ$	89,7%
	Corrección de absorción	Corrección de Absorción Empírica
	Proc. de refinamiento	Mínimos cuadrados de matriz completa sobre F^2
	Datos/restricciones/parámetros	3932 / 1 / 587
	Bondad de ajuste sobre F^2	0,967
20	Índices R finales [$I > 2\sigma(I)$]	$R1 = 0,0371$, $wR2 = 0,0854$
	Parámetro estructural absoluto	$-0,03(2)$
	Coefficiente de extinción	$0,00011(3)$
	Pico y hueco de dif. máxima	$0,297$ y $-0,294 \text{ e.\AA}^{-3}$

- 25 Se obtuvo una estructura de ensayo por procedimientos directos. Esta estructura de ensayo se refinó rutinariamente. Las posiciones de los hidrógenos se calcularon cuando fue posible. Los hidrógenos de metilo se localizaron por técnicas de diferencia de Fourier y después se idealizaron. Los parámetros de hidrógeno se añadieron a los cálculos del factor estructural pero no se refinaron. Todos los desplazamientos calculados en los ciclos finales de refinamiento por mínimos cuadrados fueron menores de 0,1 de las desviaciones típicas correspondientes. El índice R final fue del 3,71%. Una diferencia de Fourier final no reveló ninguna omisión o pérdida de densidad de electrones.
- 30 La estructura refinada se representó usando el paquete de representación SHELXTL (Figura 1). La configuración absoluta se determinó por el procedimiento de Flack. Véase Flack, H.D., Acta Crystallogr., **A39**, 876, (1983).

El Ejemplo 9 ilustra la preparación de un derivado cristalino del compuesto del Ejemplo 4A con el fin de confirmar la estructura y la estereoquímica del Ejemplo 4A.

Ejemplo 9

Por 4-nitrobenzoilación de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (4A) dando (9A):



- 5 A una solución de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (4A: 10,6 mg, 0,024 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (300 microlitros) enfriada a 0°C se le añadieron *N,N*-diisopropiletilamina (30 microlitros, 7 equivalentes) y 4-dimetilaminopridina (3 mg, 1 equivalentes) seguido de cloruro de *para*-nitrobenzoilo (27 mg, 6 equivalentes) y la mezcla resultante se agitó a 60° C durante 6 horas. La mezcla se enfrió a temperatura ambiente, se añadieron acetato de etilo y agua y la fase orgánica se lavó sucesivamente con una solución acuosa 0,5 M de ácido clorhídrico y salmuera. La fase orgánica se secó sobre sulfato de magnesio, se filtró, se concentró y el producto en bruto se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice eluyendo con un gradiente de acetato de etilo del 10 al 50% en heptano, produciendo 18 mg de producto (73% de rendimiento).

- 15 RMN de ^1H (400 MHz, cloroformo-*d*) delta 8,33 (m, 2H), 8,28-8,12 (m, 8H), 8,07 (m, 2H), 8,00 (m, 2H), 7,91 (m, 2H), 7,45-7,40 (m, 2H), 7,34 (d, 1H, $J = 8,2$ Hz), 6,87 (m, 2H), 6,64 (m, 2H), 6,13 (d, 1H, $J = 8,6$ Hz), 6,06 (t, 1H, $J = 8,3$ Hz), 5,86 (d, 1H, $J = 8,1$ Hz), 4,81 (d, 1H, $J = 8,3$ Hz), 4,75 (d, 1H, $J = 12,7$ Hz), 4,60 (d, 1H, $J = 12,8$ Hz), 4,06 (d, 1H, $J = 8,5$ Hz), 3,98-3,90 (m, 4H), 1,39 (t, 3H, $J = 7$ Hz).

- 20 Se obtuvieron cristales únicos por recristalización lenta en acetonitrilo/isopropanol como disolventes. Punto de fusión = 211°C. Se estudió un cristal representativo y se recogió un conjunto de datos de 0,88 Å (seno máximo $\Theta/\lambda = 0,57$) en un difractómetro Bruker APEX II/R. Se recogieron pares de Friedel con el fin de facilitar la determinación de la configuración absoluta. Los factores de espaciamiento atómico se tomaron de las Tablas Internacionales para Cristalografía. Véase International Tables for Crystallography. Vol. C, pp. 219, 500, Kluwer Academic Publishers, 1992. Todos los cálculos cristalográficos se facilitaron por el sistema SHELXTL. Véase SHELXTL. Versión 5.1, Bruker AXS, (1997). Todos los datos del difractómetro se recogieron a temperatura ambiente. El cristal pertinente, la recogida de datos y el refinamiento se resumen en la Tabla 2 a continuación.

Tabla 2

Datos de cristal y refinamiento de estructura para el Ejemplo 9A.

Fórmula empírica	$\text{C}_{50}\text{H}_{37}\text{O}_{19}\text{Cl}$
Peso de la fórmula	1033,29
30 Temperatura	296(2) K
Longitud de onda	1,54178 Å

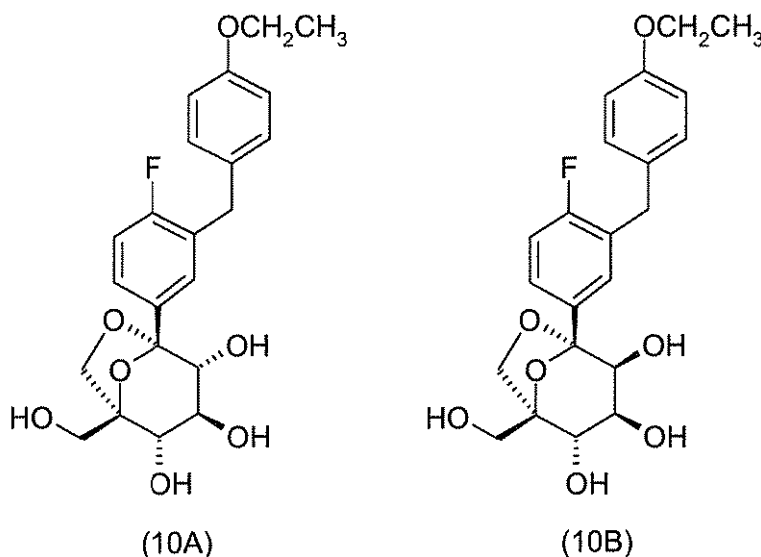
	Sistema de cristalización	Monoclínico
	Grupo espaciador	P2(1)
	Dimensiones celulares unitarias	$a = 17,5050(4) \text{ \AA}$ $\alpha = 90^\circ$.
	(continuación)	
5		$b = 6,2303(2) \text{ \AA}$ $\beta = 104,4910(10)^\circ$.
		$c = 21,9545(5) \text{ \AA}$ $\gamma = 90^\circ$.
	Volumen	$2373,03(11) \text{ \AA}^3$
	Z	2
	Densidad (calculada)	$1,466 \text{ Mg/m}^3$
10	Coefficiente de absorción	$1,452 \text{ mm}^{-1}$
	F(000)	1068
	Tamaño del cristal	$0,18 \times 0,02 \times 0,01 \text{ mm}^3$
	Intervalo de theta para la recogida de datos	de $2,55$ a $61,76^\circ$.
	Reflejos recogidos	8972
15	Reflejos independientes	5062 [$R(\text{int}) = 0,0236$]
	Complejidad para theta = $61,76^\circ$	85,8%
	Corrección de absorción	Corrección de Absorción Empírica
	Transmisión máx. y mín.	0,9856 y 0,7801
	Proc. de refinamiento	Mínimos cuadrados de matriz completa sobre F^2
20	Datos/restricciones/parámetros	5062 / 1 / 668
	Bondad de ajuste sobre F^2	1,009
	Índices R finales [$I > 2\sigma(I)$]	$R1 = 0,0436$, $wR2 = 0,1090$
	Parámetro estructural absoluto	$0,02(3)$
	Coefficiente de extinción	$0,0015(2)$
25	Pico y hueco de dif. máxima	$0,217$ y $-0,173 \text{ e.\AA}^{-3}$

Se obtuvo una estructura de ensayo por procedimientos directos. Esta estructura de ensayo se refinó rutinariamente. Las posiciones de los hidrógenos se calcularon cuando fue posible. Los hidrógenos de metilo se localizaron por técnicas de diferencia de Fourier y después se idealizaron. Los parámetros de hidrógeno se añadieron a los cálculos del factor estructural pero no se refinaron. Todos los desplazamientos calculados en los ciclos finales de refinamiento por mínimos cuadrados fueron menores de 0,1 de las desviaciones típicas correspondientes. El índice R final fue del 4,36%. Una diferencia de Fourier final no reveló ninguna omisión o pérdida de densidad de electrones.

La estructura refinada se representó usando el paquete de representación SHELXTL (Figura 2). La configuración absoluta se determinó por el procedimiento de Flack. Véase Flack, H.D., Acta Crystallogr., **A39**, 876, (1983).

Ejemplo 10

(1S,2S,3S,4R,5S)-5-[3-(4-etoxi-bencil)-4-fluoro-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (10A) y (1S,2S,3S,4S,5S)-5-[3-(4-etoxi-bencil)-4-fluoro-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (10B)



5

A una solución de {(2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-[3-(4-etoxi-bencil)-4-fluoro-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il}-metanol 1-10k (80,0 mg, 0,120 mmol) en una solución 4:1 de etanol/tetrahidrofurano (10 ml) se le añadieron sucesivamente ácido fórmico (93 microlitros, 2,32 mmol) y negro de paladio (62 mg, 0,580 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente. Después de 3 horas, se añadieron ácido fórmico (93 microlitros, 2,32 mmol) y negro de paladio (62 mg, 0,580 mmol) adicionales. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo en bruto resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente de metanol del 0 al 15% en diclorometano) para producir 35,0 mg de un sólido de color blanco (mezcla de isómeros). La mezcla de isómeros se purificó por HPLC preparativa.

10

Procedimiento de HPLC preparativa: columna de fase inversa C18 Gemini, 5 micrómetros 30 x 100 mm, caudal de 40 ml/minuto, gradiente de acetonitrilo/ácido fórmico al 0,1%:agua/ácido fórmico al 0,1%; acetonitrilo del 25 al 50%/ácido fórmico al 0,1% durante 18 minutos; detección UV: 220 nm.

15

Procedimiento analítico de HPLC: columna de fase inversa C18 Gemini, 5 µm 4,6 x 150 mm, caudal de 1 ml/minuto, gradiente de acetonitrilo/ácido trifluoroacético al 0,1%:agua/ácido trifluoroacético al 0,1%; acetonitrilo del 5 al 100%/ácido trifluoroacético al 0,1% durante 12 minutos; detección UV: 220 nm.

20

10A: (2,2 mg, 4,5% de rendimiento) R_t = 7 minutos (procedimiento analítico); las fracciones que contenían el producto se concentraron a presión reducida.

EM (EMBR) 421,4 ($M+H^+$; modo positivo) 465,3 ($M+HCO_2^-$; modo negativo). RMN de 1H (400 MHz, metanol- d_4) delta ppm 1,33 (t, J = 7,0 Hz, 3 H), 3,53 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 3,57 (dd, J = 7,5, 1,5 Hz, 1 H), 3,60 - 3,67 (m, 2 H), 3,75 (dd, J = 8,3, 1,3 Hz, 1 H), 3,81 (d, J = 12,5 Hz, 1 H), 3,89 (s, 2 H), 3,96 (c, J = 6,9 Hz, 2 H), 4,12 (d, J = 7,4 Hz, 1 H), 6,77 (m, 2 H), 7,00 (dd, J = 9,4, 8,2 Hz, 1 H), 7,08 (m, 2 H), 7,36 - 7,41 (m, 2 H).

25

10B: (1,8 mg, 3,7% de rendimiento) R_t = 7,13 minutos (procedimiento analítico); las fracciones que contenían el producto se concentraron a presión reducida.

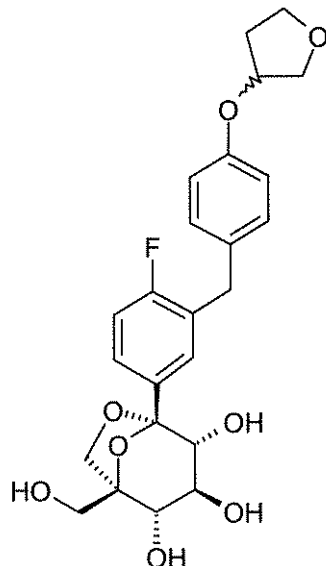
EM (EMBR) 421,4 ($M+H^+$; modo positivo) 465,3 ($M+HCO_2^-$; modo negativo). RMN de 1H (400 MHz, metanol- d_4) delta ppm 1,34 (t, J = 7,0 Hz, 3 H), 3,51 (d, J = 7,4 Hz, 1 H), 3,75 (d, 1 H, J = 12,5 Hz), 3,82 - 4,01 (m, 8 H), 4,03 (d, J = 7,4 Hz, 1 H), 6,79 (m, 2 H), 7,02 (dd, J = 9,8, 8,4 Hz, 1 H), 7,10 (m, 2 H), 7,41 - 7,49 (m, 2 H).

30

Nota: después de la HPLC preparativa, las fracciones que contenían estos productos se concentraron y se purificaron de nuevo por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente de metanol del 0 al 10% en diclorometano).

Ejemplo 11

(1S,2S,3S,4R,5S)-5-{4-fluoro-3-[4-(tetrahydro-furan-3-iloxi)-bencil]-fenil}-1-hidroximetil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (11A)



(11A)

- 5 A una solución de ((2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-{4-fluoro-3-[4-(tetrahydro-furan-3-iloxi)-bencil]-fenil}-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]oct-1-il)-metanol 1-11k (160,0 mg, 0,218 mmol) en una solución 4:1 de etanol/tetrahidrofurano (10 ml) se le añadieron sucesivamente ácido fórmico (185 microlitros, 4,64 mmol) y negro de paladio (148 mg, 1,39 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente. Después de 3 horas, se añadieron ácido fórmico (185 microlitros, 4,64 mmol) y negro de paladio (148 mg, 1,39 mmol) adicionales. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo en bruto resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente de metanol del 0 al 15% en diclorometano) para producir 100 mg de un sólido de color blanco (mezcla de isómeros). La mezcla de isómeros se purificó por HPLC preparativa.

10 Procedimiento de HPLC preparativa: columna de fase inversa C18 Gemini, 5 micrómetros 30 x 100 mm, caudal de 40 ml/minuto, gradiente de acetonitrilo/ácido fórmico al 0,1%:agua/ácido fórmico al 0,1%; acetonitrilo del 25 al 50%/ácido fórmico al 0,1% durante 18 minutos; detección UV: 220 nm.

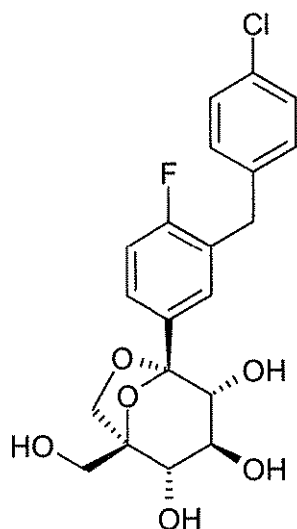
15 Procedimiento analítico de HPLC: columna de fase inversa C18 Gemini, 5 micrómetros 4,6 x 150 mm, caudal de 1 ml/minuto, gradiente de acetonitrilo/ácido trifluoroacético al 0,1%:agua/ácido trifluoroacético al 0,1%; acetonitrilo del 5 al 100%/ácido trifluoroacético al 0,1% durante 12 minutos; detección UV: 220 nm.

20 **11A:** (19 mg, 19% de rendimiento) R_t = 6,43 minutos (procedimiento analítico); las fracciones que contenían el producto se concentraron a presión reducida.

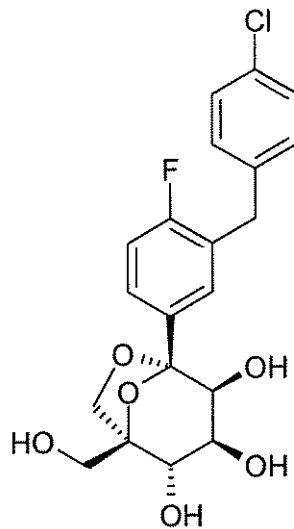
RMN de ^1H (400 MHz, metanol- d_4) delta ppm 2,03 - 2,11 (m, 1 H), 2,15 - 2,25 (m, 1 H), 3,55 (d, 1 H, J = 8 Hz), 3,59 (dd, 1 H, J = 7,4 y 1 Hz), 3,61 - 3,69 (m, 2 H), 3,77 (dd, J = 8,2 y 1 Hz, 1 H), 3,81 - 3,96 (m, 7 H), 4,14 (d, J = 7,4 Hz, 1 H), 4,94 - 4,98 (m, 1 H), 6,79 (m, 2 H), 7,02 (dd, J = 9,9, 8,5 Hz, 1 H), 7,12 (m, 2 H), 7,37 - 7,45 (m, 2 H).

Ejemplo 12

(1S,2S,3S,4R,5S)-5-[3-(4-clorobencil)-4-fluorofenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (12A) y (1S,2S,3S,4S,5S)-5-[3-(4-clorobencil)-4-fluorofenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (12B)



(12A)



(12B)

5

A una mezcla del intermedio I-12k (102 mg) y negro de paladio (98 mg, 6,1 equivalentes) en etanol/tetrahidrofurano (2 ml, 4/1 en volumen) se le añadió ácido fórmico (0,9 ml) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente. Después de 1 hora, se añadió cantidad adicional de negro de paladio (67 mg, 4,2 equivalentes) y la mezcla se dejó en agitación durante una hora adicional a temperatura ambiente. El paladio se retiró por filtración a través de Celite® y el filtrado se concentró, dando la mezcla del producto. Este material se combinó con una segunda extracción del material en bruto (preparado a partir del intermedio I-12k (80 mg) siguiendo el procedimiento descrito anteriormente) para la purificación por HPLC preparativa.

10

Condiciones de HPLC preparativa: columna de fase inversa C18 Gemini 5 micrómetros 30 x 100 mm, caudal de 40 ml/minuto, gradiente de acetonitrilo/ácido fórmico al 0,1%:agua/ácido fórmico al 0,1%; acetonitrilo del 25 al 50%/ácido fórmico al 0,1% durante 18 minutos, detección UV: 220 nm.

15

Procedimiento analítico de HPLC: columna de fase inversa C18 Gemini, 5 µm 4,6 x 150 mm, caudal de 1 ml/minuto, gradiente de acetonitrilo/ácido trifluoroacético al 0,1%:agua/ácido trifluoroacético al 0,1%; acetonitrilo del 5 al 100%/ácido trifluoroacético al 0,1% durante 12 minutos; detección UV: 220 nm.

12A: (18 mg, 16% de rendimiento) R_t = 7,11 minutos (procedimiento analítico); EM (EMBR) 411,3 ($M+H^+$; modo positivo); 409,2 ($M-H^+$; modo negativo). RMN de 1H (400 MHz, metanol- d_4) delta ppm 7,45-7,42 (m, 2H), 7,25 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,19 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,05 (dd, J = 9,6, 9,2 Hz, 1H), 4,15 (d, J = 7,6 Hz, 1H), 3,98 (s, 2H), 3,84 (d, J = 12,4 Hz, 1H), 3,78 (dd, J = 8,4, 1,2 Hz, 1H), 3,68 (d, J = 12,8 Hz, 1H), 3,66 (t, J = 8,2 Hz, 1H), 3,60 (dd, J = 7,4, 1,4 Hz, 1H), 3,56 (d, J = 7,6 Hz, 1H).

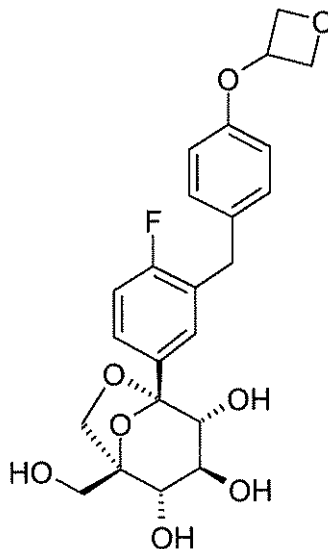
20

12B: (12 mg, 11% de rendimiento) R_t = 7,25 minutos (procedimiento analítico); EM (EMBR) 411,3 ($M+H^+$; modo positivo); 409,1 ($M-H^+$; modo negativo). RMN de 1H (400 MHz, metanol- d_4) delta ppm 7,52-7,45 (m, 2H), 7,25 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,19 (d, J = 8,4 Hz, 2H), 7,05 (dd, J = 9,8, 8,6 Hz, 1H), 4,05 (d, J = 7,2 Hz, 1H), 3,98 (s, 2H), 3,91-3,84 (m, 4H), 3,76 (d, J = 12,4 Hz, 1H), 3,52 (d, J = 7,6 Hz, 1H).

25

Ejemplo 13

(1S,2S,3S,4R,5S)-5-{4-fluoro-3-[4-(oxetan-3-iloxi)-bencil]-fenil}-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (13A)



(13A)

- 5 A una solución de ((2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-{4-fluoro-3-[4-(oxetan-3-iloxi)-bencil]-fenil}-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il)-metanol 1-13k (300 mg, 0,417 mmol) en una solución 4:1 de etanol/tetrahidrofurano (10 ml) se le añadieron sucesivamente ácido fórmico (333 microlitros, 8,34 mmol) y negro de paladio (266 mg, 2,50 mmol). La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente. Después de 3 horas, se añadieron ácido fórmico (333 microlitros, 8,34 mmol) y negro de paladio (266 mg, 2,50 mmol) adicionales. Después de 5 horas, la mezcla de reacción se filtró y el filtrado se concentró a presión reducida. El residuo en bruto resultante se purificó por cromatografía ultrarrápida sobre gel de sílice (eluyendo con un gradiente de metanol del 0 al 15% en diclorometano) para producir 153,0 mg de un sólido de color blanco (mezcla de isómeros). La mezcla de isómeros se purificó por HPLC preparativa.
- 10

Procedimiento de HPLC preparativa: columna de fase inversa C18 Gemini, 5 micrómetros 30 x 100 mm, caudal de 40 ml/minuto, gradiente de acetonitrilo/ácido fórmico al 0,1%:agua/ácido fórmico al 0,1%; acetonitrilo del 25 al 50%/ácido fórmico al 0,1% durante 18 minutos; detección UV: 220 nm.

15

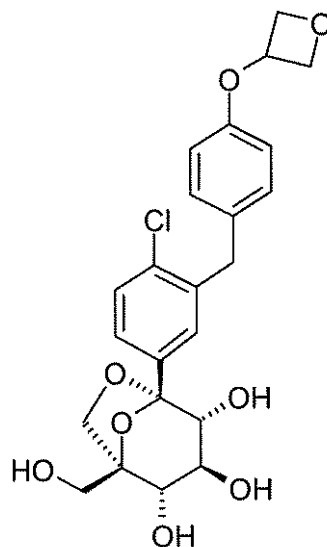
13A: (23 mg, 12% de rendimiento) R_t = 7,9 minutos; las fracciones que contenían el producto se concentraron a presión reducida.

RMN de ^1H (400 MHz, metanol- d_4) delta ppm 3,52 (d, J = 7,8 Hz, 1 H), 3,57 (d, J = 7,2 Hz, 1 H), 3,60 - 3,68 (m, 2 H), 3,75 (d, J = 8,2 Hz, 1 H), 3,81 (d, J = 12,5 Hz, 1 H), 3,89 (s, 2 H), 4,12 (d, J = 7,4 Hz, 1 H), 4,63 (dd, J = 7,3, 4,8 Hz, 2 H), 4,95 (t, J = 6,5 Hz, 2 H), 5,16 -5,23 (m, 1 H), 6,63 (m, 2 H), 7,00 (dd, J = 9,7, 8,5 Hz, 1 H), 7,10 (m, 2 H), 7,36 - 7,42 (m, 2 H).

20

Ejemplo 14

(1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-[4-(oxetan-3-iloxi)-bencil]-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (14A)



(14A)

- 5 A una solución del intermedio ((2S,3S)-2,3,4-tris-benciloxi-5-[4-cloro-3-[4-(oxetan-3-iloxi)-bencil]-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]oct-1-il)-metanol 1-14k (182 mg) en etanol/tetrahidrofurano (14 ml, 4/1 en volumen) se le añadieron sucesivamente ácido fórmico (190 microlitros, 20 equivalentes) y negro de paladio (106 mg, 4 equivalentes) y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente. Después de 2 horas se añadió 1 ml adicional de tetrahidrofurano y la mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante una hora adicional. En este momento, se añadieron
- 10 ácido fórmico (190 microlitros, 20 equivalentes) y negro de paladio (106 mg, 4 equivalentes) adicionales y la mezcla se dejó en agitación durante una hora más a temperatura ambiente. El paladio se filtró y la mezcla en bruto obtenida después de la evaporación del disolvente (que contenía una mezcla de isómeros) se purificó por HPLC preparativa.

Procedimiento de HPLC preparativa: columna de fase inversa C18 Xbridge 5 micrómetros 100 x 30 mm, caudal 40 ml/minuto, gradiente de acetonitrilo/ácido fórmico al 0,1%:agua/ácido fórmico al 0,1%; del 30 al 55% de acetonitrilo/ácido fórmico al 0,1% durante 11 minutos; detección UV: 220 nm.

15

14A: (20 mg, 17% de rendimiento); R_t = 4,43 minutos; las fracciones que contenían el producto se concentraron a presión reducida, dando como resultado un sólido de color blanco.

EM (EMBR) 465,3 (M+H⁺; modo positivo); 509,2 (M+HCO₂⁻; modo negativo). RMN de ¹H (400 MHz, metanol-d₄) delta ppm 3,53 (d, J = 8,0 Hz, 1 H), 3,58 (dd, J = 7,4, 1,4 Hz, 1 H), 3,64 (t, J = 8,2 Hz, 1 H), 3,67 (d, J = 12,4 Hz, 1 H), 3,77 (dd, J = 8,4, 1,4 Hz, 1 H), 3,83 (d, J = 12,6 Hz, 1 H), 4,03 (s, 2 H), 4,14 (d, J = 7,4 Hz, 1 H), 4,65 (m, 2 H), 4,97 (t, J = 6,6 Hz, 2 H), 5,22 (m, 1 H), 6,65 (m, 2 H), 7,11 (m, 2 H), 7,34 (d, J = 8,4 Hz, 1 H), 7,38 (dd, J = 8,4, 2,2 Hz, 1 H), 7,45 (d, J = 2,0 Hz, 1 H).

20

Ejemplo 15

Cocrystalización de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (compuesto del Ejemplo 4A) con L-prolina para dar (15):

25

Se añadió L-prolina disuelta en agua (aproximadamente 480 mg/ml) al compuesto del ejemplo 4A (aproximadamente 80 moles de L-prolina por mol del (compuesto del ejemplo 4A)). El volumen se dobló con etanol y la solución se tapó y se agitó durante aproximadamente 12 horas. El volumen se redujo a la mitad por evaporación en el banco. El volumen se dobló usando etanol y el volumen de la solución se redujo de nuevo a la mitad usando evaporación. El sólido se recuperó usando filtración por centrifugación.

30

Ejemplo 16

Cocrystalización de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (compuesto del Ejemplo 4A) con L-prolina dando (16):

35

Se añadió L-prolina disuelta en agua (aproximadamente 480 mg/ml) al compuesto del ejemplo 4A (aproximadamente 59 moles de L-prolina por mol de compuesto del ejemplo 4A). El volumen se dobló con metanol y la solución se hizo transparente. El volumen se aumentó en un 25% usando acetona. La solución se tapó y se agitó durante aproximadamente 12 horas. El volumen se redujo en aproximadamente el 60% por evaporación en el banco. El volumen se dobló usando metanol y el disolvente restante se evaporó, dejando un precipitado sólido de color blanco.

Ejemplo 17

Cocrystalización de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (compuesto del Ejemplo 4A) con L-prolina dando (17):

- 5 Una solución de etanol saturada con L-prolina se añadió al compuesto del ejemplo 4A (aproximadamente 2,2 moles de L-prolina por mol del compuesto del ejemplo 4A) en un vial de vidrio. La solución transparente se tapó y se agitó durante aproximadamente 72 horas. El volumen se redujo a la mitad por evaporación a temperatura ambiente. Se observó un precipitado y el vial se tapó y se agitó durante aproximadamente 12 horas. El sólido de color blanco se recogió usando filtración por centrifugación.

Ejemplo 18

- 10 **Cocrystalización de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (compuesto del Ejemplo 4A) con L-prolina dando (18):**

- 15 Se añadió gota a gota L-prolina disuelta en agua (330 mg/ml) a aproximadamente 2 ml del compuesto del ejemplo 4A disuelto en isopropanol (98 mg/ml) hasta que la solución se volvió turbia. Después de 15-20 minutos, se observó precipitación y la suspensión se hizo espesa. Se añadieron aproximadamente 8 ml de agua y la solución se tapó y se agitó durante toda una noche. Se recogió un sólido de color blanco usando filtración al vacío y se secó en un horno de vacío a 50°C durante aproximadamente 2 horas.

Ejemplo 19

Cocrystalización de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (compuesto del Ejemplo 4A) con ácido L-pirolutámico dando (19):

- 20 Se pipetearon 153 microlitros del compuesto (4A) en alcohol isopropílico (97,97 mg/ml) en 500 microlitros de ácido L-pirolutámico en agua (213,0 mg/ml). La solución se tapó y se agitó durante toda una noche. Se añadieron aproximadamente 5-10 mg más de ácido L-pirolutámico sólido. Se añadieron 100 microlitros de etanol. La solución se tapó y se agitó durante toda una noche. Se añadió etanol hasta que el volumen total se ajustó a aproximadamente 2 ml. La solución se destapó y se dejó durante toda una noche. Se añadieron aproximadamente 25 10-30 mg más del compuesto del ejemplo 4A. La solución se tapó y se agitó durante aproximadamente 2 días. Se observó un precipitado de color blanco. La suspensión se pipeteó en un tubo microcentrífugo Co-star equipado con un inserto de membrana de fibra de nylon de 0,45 micrómetros. La solución se centrifugó hasta que el sólido se separó de la solución. Se recuperó un cocrystal (19).

Ejemplo 20

- 30 **Cocrystalización de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (compuesto del Ejemplo 4A) con ácido L-pirolutámico dando (20):**

- 35 Se saturaron 4-5 ml de una solución 1:1 de etanol/agua con ácido L-pirolutámico (412,1 mg/ml). Se añadieron 730 mg del compuesto del ejemplo 4A a 3,2 ml de la solución de ácido L-pirolutámico. Después de aproximadamente 1 minuto, se observó precipitación. La solución era demasiado espesa para agitarse así que se añadieron 2 ml de una solución 1:1 de etanol/agua. La solución se agitó durante toda una noche. El sólido se recogió usando filtración al vacío en una membrana de filtro de nylon de 0,45 micrómetros. El sólido se secó en un horno de vacío a 50°C durante aproximadamente 2 horas. Se recuperaron aproximadamente 960 mg del complejo de cocrystal (20). Se determinó que la proporción estequiométrica del compuesto del Ejemplo 4A con respecto a ácido L-pirolutámico usando RMN cuantitativo era de 1:1,63. El exceso de ácido L-pirolutámico se retiró suspendiendo el material en 40 etanol, produciendo 1:1 de co-cristal (20).

Ejemplo 21

Cocrystalización de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (compuesto del Ejemplo 4A) con ácido L-pirolutámico dando (21):

- 45 Se disolvieron 494 mg del compuesto del ejemplo 4A en una solución de 1,5 ml de isopropanol y etanol (4:1 respectivamente). Se disolvieron 917,2 mg de ácido L-pirolutámico en 3 ml agua. Las dos soluciones se calentaron a 40°C. Se añadieron 200 microlitros de solución de ácido L-pirolutámico a la solución del compuesto del ejemplo 4A cada minuto hasta que toda la solución se transfirió (las dos soluciones se taparon a menos que la solución se hubiera transferido). El vial con solución de ácido L-pirolutámico se lavó con 200 microlitros de etanol y la solución se transfirió a la solución del compuesto del ejemplo 4A. La solución se agitó durante 5 minutos y después se detuvo el calentamiento (la solución se enfrió a aproximadamente 1°C cada 3 minutos). A 30°C, la solución se puso en un 50 agitador a temperatura ambiente y se agitó a 20°C durante 20 minutos. La solución se volvió transparente. Se añadieron aproximadamente 2 ml de cristales seminales secos. La suspensión se volvió espesa a las 2 horas. La solución se agitó durante toda una noche. El sólido se recuperó usando filtración al vacío en un filtro de embudo de vidrio sinterizado Pirex 2 ml 1G-15M. El sólido se secó durante 24 horas en un horno de vacío a 50°C.

Ejemplo 22

Cocrystal de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (compuesto del Ejemplo 4A) y L-prolina y cocrystal de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (compuesto del Ejemplo 4A) y ácido L-pirolutámico:

- 60 **Análisis de Difracción de Rayos X en Polvo:** Los patrones de difracción de rayos X en polvo del cocrystal del

compuesto del ejemplo 4A con L-prolina y el cocrystal del compuesto del ejemplo 4A con ácido L-pirolutámico se realizaron en un difractómetro Bruker D5000 usando radiación de cobre (longitud de onda: 1,54056 Å). La tensión y el amperaje de tubo se ajustaron a 40 kV y 40 mA, respectivamente. Las ranuras de divergencia y dispersión se ajustaron en 1 mm y la ranura de recepción se ajustó en 0,6 mm. La radiación difractada se detectó por un detector KeveX PSI. Se usó una exploración continua theta-dos theta a 2,4° por minuto (1 segundo por etapa de 0,04°) de 3,0 a 40° 2θ. Se analizó un patrón de alúmina para comprobar el alineamiento del instrumento. Los datos se recogieron y analizaron usando el software Bruker axis Versión 7.0. Las muestras se prepararon poniendo las mismas en un portamuestras de cuarzo. Se debe señalar que Bruker Instruments adquirió Siemens; por tanto, el instrumento Bruker D5000 esencialmente es el mismo que un Siemens D5000. Se usó software Eva Application 13.0.0.3 para visualizar y evaluar los espectros de PXRD. Los archivos de datos de PXRD (.raw) no se procesaron antes de la búsqueda de pico. Generalmente se usaron un valor Umbral de 2 y un valor de Anchura de 0,3 para realizar asignaciones de pico preliminares. La salida de las asignaciones automatizadas se comprobó visualmente para garantizar la validez y, si fue necesario, se realizaron ajustes manualmente.

Para realizar una medición de difracción de rayos-X en un instrumento de Bragg-Brentano como el sistema Bruker usado para las mediciones descritas en el presente documento, la muestra se pone típicamente en un portamuestras que tiene una cavidad. El polvo de muestra se presiona por un portaobjetos de vidrio o equivalente para garantizar una superficie aleatoria y una altura apropiada de muestra. Después, el portamuestras de muestra se pone en el instrumento. El haz de rayos-X incidente se dirige hacia la muestra, inicialmente a un ángulo pequeño con respecto al plano del portamuestras y después se mueve por un arco que aumenta continuamente el ángulo entre el haz incidente y el plano del portamuestras. Las diferencias de medición asociadas con tales análisis en polvo de rayos-X se producen por una diversidad de factores que incluyen: (a) errores en la preparación de muestra (por ejemplo, altura de muestra), (b) errores de instrumento (por ejemplo, errores de muestra plana), (c) errores de calibración, (d) errores de operario (incluyendo los errores presentes cuando se determinan las localizaciones de pico) y (e) la naturaleza del material (por ejemplo, orientación preferida y errores de transparencia). Los errores de calibración y errores de altura de muestra con frecuencia dan como resultado un cambio de todos los picos en la misma dirección. Diferencias pequeñas en la altura de muestra cuando se usa un portamuestras plano conducirán a grandes desplazamientos en las posiciones de pico de XRPD. Un estudio sistemático mostró que, mediante el uso de un Shimadzu XRD-6000 en la configuración típica de Bragg-Brentano, la diferencia de altura de muestra de 1 mm condujo a cambios de pico de hasta 1° 2θ (Chen y cols.; *J Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2001; 26,63). Estos cambios se pueden identificar a partir del Difractograma de rayos-X y se pueden eliminar compensando el cambio (aplicando un factor de corrección sistemática a todos los valores de posición de pico) o recalibrando el instrumento. Como se ha mencionado anteriormente, es posible rectificar mediciones de las diversas máquinas aplicando un factor de corrección sistemática para llevar las posiciones de pico a concordancia. En general, este factor de corrección llevará a las posiciones medidas de pico del Bruker en concordancia con las posiciones esperadas de pico y puede estar en el intervalo de 0 a 0,2° 2θ.

Los valores de difracción de rayos-X en polvo generalmente tienen un margen de error de sólo $\pm 0,2^\circ$ 2-grados theta debido a ligeras variaciones del instrumento y condiciones de ensayo.

El cocrystal del compuesto del ejemplo 4A y la L-prolina del Ejemplo 18 se caracterizó por el siguiente patrón de difracción de rayos-X en polvo, proporcionado en la Figura 3, expresado en términos del grado 2θ e intensidades relativas con una intensidad relativa de $\geq 2,7\%$ medida en un difractómetro Bruker D5000 con radiación de CuKα:

Angulo (Grado 2θ)	Intensidad Relativa* ($\geq 2,7\%$)
4,6	5,1
5,5	12,8
7,6	40,2
8,5	11,9
10,3	9,1
11,0	4,5
12,1	22,3
12,6	13,5
14,4	13,1
14,8	16,1
15,3	2,7
15,9	10,4
16,5	3,0

ES 2 380 408 T3

Angulo (Grado 2 θ)	Intensidad Relativa* ($\geq 2,7\%$)
16,8	8,2
17,0	16,6
17,4	33,9
18,1	2,9
18,4	10,3
18,9	16,8
19,5	12,2
20,3	100,0
21,0	6,5
22,0	5,5
22,2	7,1
22,6	11,5
22,9	29,3
23,5	4,5
24,3	13,8
24,8	14,2
25,4	14,7
25,7	23,2
26,0	6,9
26,8	5,9
27,0	5,8
27,5	21,2
28,8	15,5
29,4	6,5
29,8	8,2
30,2	5,3
30,7	14,1
31,7	5,2
32,1	7,4
32,5	7,7
33,0	9,9
33,3	7,5
33,8	5,5
34,4	5,8
35,5	3,4

Angulo (Grado 2 θ)	Intensidad Relativa* ($\geq 2,7\%$)
35,8	4,0
36,9	3,1
37,4	2,9
38,2	4,7
38,3	6,0
39,3	8,0
*Las intensidades relativas pueden cambiar dependiendo del tamaño y la morfología del cristal.	

Picos 2 θ característicos o combinaciones de cocrystal del compuesto del ejemplo 4A y L-prolina:

Angulo (Grado 2 θ)
7,6
12,1
20,3
28,8

- 5 El cocrystal del compuesto del ejemplo 4A y ácido L-piroglutámico del Ejemplo 20 se caracterizó por el siguiente patrón de difracción de rayos-X en polvo, proporcionado en la Figura 4, expresado en términos del grado 2 θ e intensidades relativas con una intensidad relativa de $\geq 2,7\%$ medida en un difractómetro Bruker D5000 con radiación de CuK α :

Angulo (Grado 2 θ)	Intensidad Relativa* ($\geq 4,3\%$)
6,4	31,0
7,6	5,9
11,8	4,3
12,3	8,8
12,7	11,0
13,5	10,4
14,2	31,3
14,4	24,0
15,2	13,9
16,7	66,8
17,4	57,1
18,3	10,5
18,7	53,3
19,1	24,2
19,3	32,0

Angulo (Grado 2 θ)	Intensidad Relativa* ($\geq 4,3\%$)
19,8	9,2
20,3	75,6
21,1	100,0
22,5	9,2
23,6	11,7
24,3	18,7
24,7	22,2
25,0	14,2
26,2	53,4
27,2	4,6
27,9	10,0
28,3	26,3
29,0	14,5
29,5	31,3
30,7	16,2
31,5	5,4
32,0	23,2
33,0	9,9
34,2	19,9
35,2	5,4
35,9	13,6
37,3	8,3
37,9	9,5
38,4	6,1
39,2	10,3
* Las intensidades relativas pueden cambiar dependiendo del tamaño y la morfología del cristal.	

Picos 2 θ característicos o combinaciones de cocrystal del compuesto del ejemplo 4A y ácido L-pirolutámico:

Angulo (Grado 2 θ)
6,4
16,7
17,4
21,1

Ejemplo 23

5 Cocrystal de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (compuesto del Ejemplo 4A) y L-prolina y cocrystal de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-

bencil)-fenil-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (compuesto del Ejemplo 4A) y ácido L-piroglutámico:

Análisis de Termograma Calorimétrico de Exploración Diferencial:

- Se obtuvieron termogramas en un Calorímetro de Exploración Diferencial (DSC) de TA Instruments Q1000. Se pusieron 1-2 mg de muestra en recipientes de muestra de aluminio y después se cubrieron con una tapa perforada. La energía se midió frente a un recipiente vacío cuando la temperatura aumentó de 25°C a 200-300°C a 10°C por minuto. La temperatura de inicio de la endotermia de fusión se describió como la temperatura de fusión. La temperatura de inicio de la endotermia de fusión depende de la velocidad de calentamiento, la pureza de la muestra, el tamaño del cristal y la muestra, entre otros factores. Típicamente, los resultados de DSC tienen un margen de error de sólo aproximadamente $\pm 2^\circ\text{C}$, preferentemente de sólo $\pm 1,5^\circ\text{C}$.

Los resultados de DSC del cocrystal del Ejemplo 18 del compuesto del Ejemplo 4A y L-prolina se muestran en la Figura 5.

Los resultados de DSC del cocrystal del Ejemplo 20 del compuesto del Ejemplo 4A y ácido L-piroglutámico se muestran en la Figura 6.

Ejemplo 24

Cocrystal de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil- 6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (compuesto del Ejemplo 4A) y L-prolina

- Análisis de rayos-X de un solo cristal.** Se estudió un cristal representativo mediante el uso del filtrado del ejemplo 17 y concentración por evaporación lenta y se recogió un conjunto de datos de 0,85 Å (sen máximo $\Theta/\lambda=0,60$) en un difractómetro Bruker APEX. Los pares de Friedel se recogieron para facilitar la determinación de la configuración absoluta. Los factores de dispersión atómica se tomaron de las International Tables for Crystallography, Vol. C, págs. 219, 500, Kluwer Academic Publishers, 1992. Se facilitaron todos los cálculos cristalográficos por el sistema SHELXTL, Versión 5.1, Bruker AXS, 1997. Todos los datos de difractómetro se recogieron a temperatura ambiente. El cristal pertinente, la recogida de datos y el refinamiento se resumen en la Tabla 24-1.

- Se obtuvo una estructura experimental por procedimientos directos. Esta estructura experimental se perfeccionó de forma rutinaria excepto la molécula de agua inesperada y el trastorno conformacional con la L-prolina. La L-prolina se modeló con ~60/40 de ocupación en las conformaciones de "semi-silla" y "sobre". Se observó un trastorno muy similar en H. D. Flack, Acta Crystallogr. **A39**, 876, 1983.

- Los átomos de hidrógeno unidos a N1, O6 y O7 se localizaron por técnicas de diferencia de Fourier y se dejaron perfeccionar con las distancias limitadas. Los átomos de hidrógeno pertinentes unidos a O5 se localizaron por técnicas de Fourier, pero se suprimieron y se pusieron en una localización idealizada (HFIX 83). El átomo de hidrógeno pertinente unido a O4 no se pudo encontrar con técnicas de Fourier y se puso en una localización idealizada (HFIX 83). Los átomos de hidrógeno en la molécula de agua no se pudieron localizar y se dejaron fuera de la solución. Los parámetros de hidrógeno se añadieron a los cálculos de factor de estructura pero no se refinaron. Los cambios calculados en los ciclos finales del refinamiento por mínimos cuadrados fueron todos inferiores a 0,1 de las desviaciones típicas correspondientes. El índice R final fue del 5,15%. Una diferencia de Fourier final no mostró ninguna densidad de electrones ausente o colocada erróneamente.

- La estructura refinada se representó usando el paquete de representación SHELXTL (Figura 7). La configuración absoluta se determinó por el procedimiento de Flack⁴. Las coordenadas, factores de temperatura anisótropa, distancias y ángulos están disponibles como material complementario (Tablas 24-2 a 24-5).

Tabla 24-1.

Datos de cristal y refinamiento de estructura para el Ejemplo 24

	Formula empírica	$\text{C}_{22} \text{H}_{25} \text{Cl O}_7, \text{C}_5 \text{H}_9 \text{N O}_2, \text{H}_2\text{O}$	
	Peso de fórmula	570,02	
45	Temperatura	298(2) K	
	Longitud de onda	1,54178 Å	
	Sistema de cristalización	Monoclínico	
	Grupo separador	C2	
	Dimensiones de celda unitaria	$a = 32,8399(16) \text{ Å}$ $\alpha = 90^\circ$.	
50		$b = 7,2457(4) \text{ Å}$ $\beta = 101,268(5)^\circ$.	
		$c = 11,8023(6) \text{ Å}$ $\gamma = 90^\circ$.	
	Volumen	2754,2(2) Å ³	
	Z	4	

Densidad (calculada)	1,375 Mg/m ³
Coeficiente de absorción	1,729 mm ⁻¹
F(000)	1208

(continuación)

5	Tamaño de cristal	0,08 x 0,16 x 0,92 mm ³
	Intervalo de theta para recogida de datos	de 2,74 a 65,58°.
	Intervalos de índice	-38<=h<=37, -8<=k<=6, -13<=l<=13
	Reflexiones recogidas	6261
	Reflexiones independientes	2922 [R(int) = 0,0526]
10	Complejidad para theta = 65,58°	74,9%
	Corrección de absorción	Ninguna
	Procedimiento de refinamiento	Matriz completa de mínimos cuadrados en F ²
	Datos/limitaciones/parámetros	2922 / 5/ 380
	Bondad de ajuste en F ²	0,953
15	Índices R finales [I>2sigma(I)]	R1 = 0,0515, wR2 = 0,1304
	Índices R (todos los datos)	R1 = 0,0581, wR2 = 0,1334
	Parámetro de estructura absoluto	0,02(3)
	Coeficiente de extinción	0,0027(2)
	Mayor dif. De pico y valle	0,252 y -0,210 e. Å ⁻³

20

Tabla 24-2.

Coordenadas atómicas (x 10⁴) y parámetros de desplazamiento isótropo equivalentes (Å² x 10³) para el Ejemplo 24.
U(eq) se define como un tercio de la traza del tensor U_{ij} ortogonalizado.

	x	y	z	U(eq.)
Cl(01)	7251(1)	14669(2)	1220(1)	73(1)
N(1)	5586(1)	4836(6)	1285(3)	52(1)
O(1)	6821(1)	9986(6)	5726(3)	66(1)
C(1)	6691(2)	13136(9)	6328(5)	78(2)
O(2)	6311(1)	7637(5)	-1948(2)	50(1)
C(2)	6929(2)	11374(9)	6600(4)	66(1)
O(3)	5936(1)	10106(4)	-2723(2)	46(1)
C(3)	6973(1)	10182(7)	4725(4)	55(1)
O(4)	5415(2)	10596(7)	-4969(4)	89(1)
C(4)	7278(2)	11410(8)	4564(4)	62(1)
C(5)	7411(2)	11447(8)	3506(4)	59(1)
O(5)	5145(1)	6652(5)	-3818(3)	66(1)
C(6)	7237(1)	10299(7)	2618(4)	53(1)
O(6)	5092(1)	7027(5)	-1397(3)	63(1)
O(7)	5878(1)	7968(5)	33(3)	54(1)
C(7)	6932(2)	9079(7)	2793(4)	59(1)

ES 2 380 408 T3

O(8)	5009(1)	2361(6)	1421(4)	78(1)
C(8)	6804(2)	8992(8)	3838(5)	59(1)
O(9)	5409(1)	-82(6)	1265(4)	76(1)

(continuación)

	x	y	z	U(eq.)
C(9)	7365(1)	10429(8)	1443(4)	59(1)
C(10)	7014(1)	11175(7)	533(4)	51(1)
C(11)	6926(1)	13040(7)	382(4)	52(1)
C(12)	6592(2)	13693(7)	-395(4)	58(1)
C(13)	6331(1)	12460(7)	-1057(3)	52(1)
C(14)	6401(1)	10583(6)	-950(3)	44(1)
C(15)	6744(1)	9959(7)	-151(3)	49(1)
C(16)	6104(1)	9260(6)	-1659(4)	47(1)
C(17)	6125(1)	7179(7)	-3112(4)	51(1)
C(18)	5775(1)	8575(6)	-3448(4)	49(1)
C(19)	5720(2)	9220(7)	-4695(4)	59(1)
C(20)	5363(1)	8012(7)	-3103(4)	51(1)
C(21)	5455(1)	7344(7)	-1843(4)	50(1)
C(22)	5739(1)	8727(6)	-1085(4)	46(1)
C(23)	5335(2)	1609(8)	1299(4)	62(1)
C(24)	5698(2)	2825(8)	1186(5)	63(1)
C(25)	6072(2)	2583(12)	2141(9)	105(3)
C(26)	5826(2)	5594(10)	2391(5)	74(2)
C(35A)	6000(5)	4000(30)	3036(13)	126(7)
C(35B)	6229(4)	4430(20)	2538(15)	71(5)
O(99A)	5382(2)	3257(7)	6727(5)	101(2)

Tabla 24-3.

Longitudes de enlace [Å] y ángulos [°] para Ejemplo 24

Cl(01)-C(11)	1,761(4)
N(1)-C(26)	1,492(7)
N(1)-C(24)	1,513(7)
N(1)-H(98A)	0,977(18)
N(1)-H(98B)	1,00(2)
O(1)-C(3)	1,377(5)
O(1)-C(2)	1,434(7)
C(1)-C(2)	1,499(8)
C(1)-H(03C)	0,9600
C(1)-H(03D)	0,9600

C(1)-H(03E)	0,9600
O(2)-C(17)	1,430(5)
O(2)-C(16)	1,434(5)
(continuación)	
C(2)-H(03F)	0,9700
C(2)-H(03G)	0,9700
O(3)-C(16)	1,409(5)
O(3)-C(18)	1,437(5)
C(3)-C(4)	1,379(7)
C(3)-C(8)	1,386(7)
O(4)-C(19)	1,405(7)
O(4)-H(4A)	0,8200
C(4)-C(5)	1,401(7)
C(4)-H(025)	0,9300
C(5)-C(6)	1,371(7)
C(5)-H(2)	0,9300
O(5)-C(20)	1,400(6)
O(5)-H(5)	0,8200
C(6)-C(7)	1,383(7)
C(6)-C(9)	1,528(6)
O(6)-C(21)	1,413(5)
O(6)-H(99A)	0,95(2)
O(7)-C(22)	1,420(5)
O(7)-H(99B)	0,93(2)
C(7)-C(8)	1,380(7)
C(7)-H(026)	0,9300
O(8)-C(23)	1,235(7)
C(8)-H(033)	0,9300
O(9)-C(23)	1,251(7)
C(9)-C(10)	1,513(7)
C(9)-H(02A)	0,9700
C(9)-H(02B)	0,9700
C(10)-C(11)	1,386(7)
C(10)-C(15)	1,392(7)
C(11)-C(12)	1,369(7)
C(12)-C(13)	1,373(7)
C(12)-H(027)	0,9300
C(13)-C(14)	1,381(7)
C(13)-H(021)	0,9300

C(14)-C(15)	1,394(6)
C(14)-C(16)	1,501(6)
C(15)-H(030)	0,9300
(continuación)	
C(16)-C(22)	1,536(6)
C(17)-C(18)	1,526(6)
C(17)-H(02C)	0,9700
C(17)-H(02D)	0,9700
C(18)-C(19)	1,520(6)
C(18)-C(20)	1,540(6)
C(19)-H(03H)	0,9700
C(19)-H(03I)	0,9700
C(20)-C(21)	1,537(6)
C(20)-H(4)	0,9800
C(21)-C(22)	1,533(6)
C(21)-H(015)	0,9800
C(22)-H(013)	0,9800
C(23)-C(24)	1,510(7)
C(24)-C(25)	1,506(10)
C(24)-H(029)	0,9800
C(25)-C(35B)	1,479(17)
C(25)-C(35A)	1,52(2)
C(25)-H(34A)	0,9700
C(25)-H(34B)	0,9700
C(26)-C(35A)	1,440(19)
C(26)-C(35B)	1,548(14)
C(26)-H(03A)	0,9700
C(26)-H(03B)	0,9700
C(35A)-H(35A)	0,9700
C(35A)-H(35B)	0,9700
C(35B)-H(35C)	0,9700
C(35B)-H(35D)	0,9700
C(26)-N(1)-C(24)	109,1(4)
C(26)-N(1)-H(98A)	107(2)
C(24)-N(1)-H(98A)	109(3)
C(26)-N(1)-H(98B)	97(3)
C(24)-N(1)-H(98B)	119(3)
H(98A)-N(1)-H(98B)	114(4)
C(3)-O(1)-C(2)	117,7(4)

C(2)-C(1)-H(03C)	109,5
C(2)-C(1)-H(03D)	109,5
H(03C)-C(1)-H(03D)	109,5
(continuación)	
C(2)-C(1)-H(03E)	109,5
H(03C)-C(1)-H(03E)	109,5
H(03D)-C(1)-H(03E)	109,5
C(17)-O(2)-C(16)	106,6(3)
O(1)-C(2)-C(1)	113,4(5)
O(1)-C(2)-H(03F)	108,9
C(1)-C(2)-H(03F)	108,9
O(1)-C(2)-H(03G)	108,9
C(1)-C(2)-H(03G)	108,9
H(03F)-C(2)-H(03G)	107,7
C(16)-O(3)-C(18)	103,3(3)
O(1)-C(3)-C(4)	125,4(4)
O(1)-C(3)-C(8)	115,1(4)
C(4)-C(3)-C(8)	119,4(4)
C(19)-O(4)-H(4A)	109,5
C(3)-C(4)-C(5)	119,7(5)
C(3)-C(4)-H(025)	120,2
C(5)-C(4)-H(025)	120,2
C(6)-C(5)-C(4)	121,0(5)
C(6)-C(5)-H(2)	119,5
C(4)-C(5)-H(2)	119,5
C(20)-O(5)-H(5)	109,5
C(5)-C(6)-C(7)	118,6(4)
C(5)-C(6)-C(9)	120,7(4)
C(7)-C(6)-C(9)	120,7(4)
C(21)-O(6)-H(99A)	105(3)
C(22)-O(7)-H(99B)	108(3)
C(8)-C(7)-C(6)	121,2(4)
C(8)-C(7)-H(026)	119,4
C(6)-C(7)-H(026)	119,4
C(7)-C(8)-C(3)	120,0(4)
C(7)-C(8)-H(033)	120,0
C(3)-C(8)-H(033)	120,0
C(10)-C(9)-C(6)	111,2(3)
C(10)-C(9)-H(02A)	109,4

C(6)-C(9)-H(02A)	109,4
C(10)-C(9)-H(02B)	109,4
C(6)-C(9)-H(02B)	109,4
(continuación)	
H(02A)-C(9)-H(02B)	108,0
C(11)-C(10)-C(15)	116,7(4)
C(11)-C(10)-C(9)	123,4(4)
C(15)-C(10)-C(9)	119,8(4)
C(12)-C(11)-C(10)	122,9(4)
C(12)-C(11)-Cl(01)	117,6(4)
C(10)-C(11)-Cl(01)	119,5(4)
C(11)-C(12)-C(13)	119,1(5)
C(11)-C(12)-H(027)	120,5
C(13)-C(12)-H(027)	120,5
C(12)-C(13)-C(14)	121,0(4)
C(12)-C(13)-H(021)	119,5
C(14)-C(13)-H(021)	119,5
C(13)-C(14)-C(15)	118,6(4)
C(13)-C(14)-C(16)	119,9(4)
C(15)-C(14)-C(16)	121,4(4)
C(10)-C(15)-C(14)	121,8(5)
C(10)-C(15)-H(030)	119,1
C(14)-C(15)-H(030)	119,1
O(3)-C(16)-O(2)	105,4(3)
O(3)-C(16)-C(14)	108,5(4)
O(2)-C(16)-C(14)	111,6(3)
O(3)-C(16)-C(22)	107,4(3)
O(2)-C(16)-C(22)	110,3(4)
C(14)-C(16)-C(22)	113,2(3)
O(2)-C(17)-C(18)	104,8(3)
O(2)-C(17)-H(02C)	110,8
C(18)-C(17)-H(02C)	110,8
O(2)-C(17)-H(02D)	110,8
C(18)-C(17)-H(02D)	110,8
H(02C)-C(17)-H(02D)	108,9
O(3)-C(18)-C(19)	107,4(4)
O(3)-C(18)-C(17)	100,7(3)
C(19)-C(18)-C(17)	113,4(4)
O(3)-C(18)-C(20)	106,7(3)

C(19)-C(18)-C(20)	113,1(4)
C(17)-C(18)-C(20)	114,3(4)
O(4)-C(19)-C(18)	112,7(4)
(continuación)	
O(4)-C(19)-H(03H)	109,0
C(18)-C(19)-H(03H)	109,0
O(4)-C(19)-H(03I)	109,0
C(18)-C(19)-H(03I)	109,0
H(03H)-C(19)-H(03I)	107,8
O(5)-C(20)-C(21)	110,0(4)
O(5)-C(20)-C(18)	113,5(4)
C(21)-C(20)-C(18)	108,9(3)
O(5)-C(20)-H(4)	108,1
C(21)-C(20)-H(4)	108,1
C(18)-C(20)-H(4)	108,1
O(6)-C(21)-C(22)	110,6(3)
O(6)-C(21)-C(20)	113,1(4)
C(22)-C(21)-C(20)	109,9(4)
O(6)-C(21)-H(015)	107,7
C(22)-C(21)-H(015)	107,7
C(20)-C(21)-H(015)	107,7
O(7)-C(22)-C(21)	109,7(4)
O(7)-C(22)-C(16)	111,8(3)
C(21)-C(22)-C(16)	110,3(3)
O(7)-C(22)-H(013)	108,3
C(21)-C(22)-H(013)	108,3
C(16)-C(22)-H(013)	108,3
O(8)-C(23)-O(9)	127,9(5)
O(8)-C(23)-C(24)	118,1(5)
O(9)-C(23)-C(24)	114,1(5)
C(25)-C(24)-C(23)	114,1(5)
C(25)-C(24)-N(1)	103,3(5)
C(23)-C(24)-N(1)	110,3(4)
C(25)-C(24)-H(029)	109,6
C(23)-C(24)-H(029)	109,6
N(1)-C(24)-H(029)	109,6
C(35B)-C(25)-C(24)	108,3(8)
C(35B)-C(25)-C(35A)	42,4(8)
C(24)-C(25)-C(35A)	103,1(8)

C(35B)-C(25)-H(34A)	70,3
C(24)-C(25)-H(34A)	111,2
C(35A)-C(25)-H(34A)	111,2
(continuación)	
C(35B)-C(25)-H(34B)	137,2
C(24)-C(25)-H(34B)	111,2
C(35A)-C(25)-H(34B)	111,1
H(34A)-C(25)-H(34B)	109,1
C(35A)-C(26)-N(1)	104,8(9)
C(35A)-C(26)-C(35B)	42,5(9)
N(1)-C(26)-C(35B)	101,1(7)
C(35A)-C(26)-H(03A)	110,8
N(1)-C(26)-H(03A)	110,8
C(35B)-C(26)-H(03A)	73,1
C(35A)-C(26)-H(03B)	110,8
N(1)-C(26)-H(03B)	110,8
C(35B)-C(26)-H(03B)	144,0
H(03A)-C(26)-H(03B)	108,9
C(26)-C(35A)-C(25)	105,8(10)
C(26)-C(35A)-H(35A)	110,6
C(25)-C(35A)-H(35A)	110,6
C(26)-C(35A)-H(35B)	110,6
C(25)-C(35A)-H(35B)	110,6
H(35A)-C(35A)-H(35B)	108,7
C(25)-C(35B)-C(26)	102,7(8)
C(25)-C(35B)-H(35C)	111,2
C(26)-C(35B)-H(35C)	111,2
C(25)-C(35B)-H(35D)	111,2
C(26)-C(35B)-H(35D)	111,2
H(35C)-C(35B)-H(35D)	109,1

Tabla 24-4.

Parámetros de desplazamiento anisótropo ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) del Ejemplo 24. El exponente del factor de desplazamiento anisótropo adopta la forma: $-2\pi^2 [h^2 a^{*2} U_{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U_{12}]$

	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{23}	U_{13}	U_{12}
Cl(01)	77(1)	69(1)	69(1)	-11(1)	1(1)	-27(1)
N(1)	56(2)	40(2)	60(2)	0(2)	12(2)	0(2)
O(1)	70(2)	70(3)	62(2)	2(2)	23(2)	-3(2)
C(1)	80(3)	76(4)	77(3)	-2(3)	13(3)	8(3)

ES 2 380 408 T3

O(2)	47(1)	52(2)	49(1)	-1(1)	3(1)	12(1)
C(2)	63(3)	84(4)	52(2)	1(2)	13(2)	7(3)
O(3)	46(1)	43(2)	45(1)	2(1)	3(1)	-1(1)

(continuación)

	U ₁₁	U ₂₂	U ₃₃	U ₂₃	U ₁₃	U ₁₂
C(3)	48(2)	59(3)	57(2)	5(2)	12(2)	8(2)
O(4)	111(3)	83(3)	62(2)	8(2)	-10(2)	23(3)
C(4)	59(3)	72(4)	53(2)	-10(2)	10(2)	-12(2)
C(5)	54(2)	66(3)	55(2)	-6(2)	4(2)	-11(2)
O(5)	69(2)	59(2)	59(2)	2(2)	-12(2)	-8(2)
C(6)	41(2)	55(3)	59(2)	-2(2)	4(2)	4(2)
O(6)	58(2)	47(2)	87(2)	-6(2)	25(2)	-9(1)
O(7)	62(2)	49(2)	51(2)	2(1)	12(1)	-1(1)
C(7)	54(2)	59(3)	58(2)	-11(2)	-4(2)	-2(2)
O(8)	63(2)	63(3)	116(3)	-22(2)	36(2)	-12(2)
C(8)	52(2)	57(3)	69(3)	-1(2)	12(2)	-7(2)
O(9)	90(2)	52(3)	98(2)	-8(2)	44(2)	-7(2)
C(9)	45(2)	72(4)	58(2)	-12(2)	5(2)	1(2)
C(10)	45(2)	61(3)	46(2)	-4(2)	11(2)	-3(2)
C(11)	57(2)	48(3)	50(2)	-8(2)	11(2)	-16(2)
C(12)	75(3)	43(3)	57(2)	2(2)	12(2)	-1(2)
C(13)	50(2)	54(3)	49(2)	7(2)	4(2)	-2(2)
C(14)	48(2)	44(2)	41(2)	1(2)	10(2)	0(2)
C(15)	47(2)	54(3)	45(2)	-5(2)	8(2)	5(2)
C(16)	45(2)	49(3)	47(2)	-1(2)	8(2)	3(2)
C(17)	54(2)	47(3)	52(2)	-10(2)	8(2)	-2(2)
C(18)	52(2)	44(3)	47(2)	-6(2)	1(2)	0(2)
C(19)	63(3)	60(3)	50(2)	-7(2)	1(2)	-3(2)
C(20)	45(2)	45(3)	56(2)	-3(2)	-3(2)	4(2)
C(21)	51(2)	37(2)	60(2)	-1(2)	11(2)	3(2)
C(22)	48(2)	40(2)	50(2)	-2(2)	10(2)	5(2)
C(23)	79(3)	46(3)	65(3)	-12(2)	24(2)	-3(2)
C(24)	63(3)	49(3)	84(3)	3(2)	30(2)	4(2)
C(25)	70(4)	63(5)	176(8)	13(5)	8(4)	14(3)
C(26)	68(3)	79(4)	68(3)	-3(3)	-3(3)	8(3)
C(35A)	104(11)	178(19)	79(8)	29(10)	-26(8)	-30(11)
C(35B)	43(6)	73(10)	90(9)	-3(7)	-1(6)	4(6)
O(99A)	130(4)	76(4)	95(3)	14(2)	18(3)	9(3)

Tabla 24-5.

Coordenadas de hidrógeno ($\times 10^4$) y parámetros de desplazamiento isótopo ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) para el Ejemplo 24

	x	y	z	U(eq)
H(98A)	5291(6)	4930(60)	1320(30)	33(9)
H(98B)	5680(13)	5750(50)	760(30)	51(12)
H(03C)	6764	13698	5659	117
H(03D)	6757	13962	6973	117
H(03E)	6398	12877	6176	117
H(03F)	7223	11637	6698	80
H(03G)	6878	10893	7327	80
H(4A)	5481	11497	-4553	134
H(025)	7394	12210	5155	74
H(2)	7619	12262	3404	71
H(5)	5097	7017	-4489	98
H(99A)	4974(16)	8220(40)	-1350(50)	64(15)
H(99B)	5744(13)	8610(60)	540(30)	54(13)
H(026)	6810	8302	2195	71
H(033)	6604	8136	3947	71
H(02A)	7604	11232	1504	71
H(02B)	7443	9215	1214	71
H(027)	6544	14955	-474	70
H(021)	6103	12894	-1584	62
H(030)	6793	8697	-74	59
H(02C)	6017	5929	-3159	61
H(02D)	6325	7285	-3614	61
H(03H)	5982	9696	-4830	71
H(03I)	5643	8173	-5204	71
H(4)	5187	9111	-3149	61
H(015)	5605	6171	-1818	59
H(013)	5578	9843	-1009	55
H(029)	5776	2606	438	76
H(34A)	6327	2839	1870	126
H(34B)	6084	1342	2453	126
H(03A)	6044	6414	2248	89
H(03B)	5645	6267	2805	89
H(35A)	5809	3518	3496	152
H(35B)	6259	4310	3548	152
H(35C)	6415	4913	2066	85

(continuación)

	x	y	z	U(eq)
H(35D)	6372	4404	3339	85

Ejemplo 25

Cocrystal de Ejemplo 20 de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroxi-metil-6,8-dioxabicyclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (compuesto del Ejemplo 4A) y ácido L-piroglutámico:

5 **Análisis de Rayos-X de un solo Cristal.** Se estudió un cristal representativo de una muestra del Ejemplo 20 y se recogió un conjunto de datos de 0,90 Å (sen máximo $\Theta/\lambda=0,56$) en un difractor Bruker APEX. Los pares de Friedel se recogieron para facilitar la determinación de la configuración absoluta. La estereoquímica se determinó a partir del parámetro de flack y también a partir de la quiralidad conocida del conformero (ácido L-piroglutámico). Los factores de dispersión atómica se tomaron de las International Tables for Crystallography, Vol. C, págs. 219, 500, Kluwer Academic Publishers, 1992. Se facilitaron todos los cálculos cristalográficos por el sistema SHELXTL, Versión 5.1, Bruker AXS, 1997. Todos los datos de difractor se recogieron a temperatura ambiente. El cristal
10 pertinente, la recogida de datos y el refinamiento se resumen en la Tabla 25-1.

Se obtuvo una estructura experimental por procedimientos directos. Esta estructura experimental se perfeccionó de forma rutinaria, excepto por un pico residual bajo que se perfeccionó como agua estequiométrica 0,1. La estequiometría de agua se observó suprimiendo en primer lugar un grupo hidroxilo en la molécula, perfeccionando y midiendo el pico q resultante; después comparando este pico con el pico residual de la molécula de agua. Usando este procedimiento se estimó una proporción de 1 a 0,1 (molécula a agua). Adicionalmente, al eliminar la molécula de agua de la solución y buscar espacios vacíos en el cristal con Material Studio, Platon y Mercury se mostró un volumen plausible de 33 angstroms cúbicos para una molécula de agua (el agua típicamente tiene aproximadamente 40 angstroms cúbicos de espacio). Los átomos de hidrógeno en el nitrógeno y oxígeno se localizaron por técnicas de diferencia de Fourier y se dejaron perfeccionar libremente sin limitaciones. Unos pocos de los protones unidos a heteroátomos (H97a, H97b, H97c y H97c) mostraron longitudes de enlace un tanto cortas (~0,8 angstroms encontrados frente a ~0,96 esperados), aunque las distancias se dejaron sin limitaciones. Los átomos de hidrógeno en O99 (agua) no se encontraron a partir del mapa de diferencia y se dejaron fuera de la solución de estructura. Los parámetros de hidrógeno se añadieron a los cálculos de factor de estructura pero no se refinaron. Los cambios calculados en los ciclos finales del refinamiento por mínimos cuadrados fueron todos inferiores a 0,2 de las desviaciones típicas correspondientes. El índice R final fue del 3,58%. Una diferencia final de Fourier no mostró ninguna densidad de electrones ausente o colocada erróneamente. De los restos remanentes, uno está en una posición razonable para un protón unido a O39 (ácido carboxílico). Este resto podría ser una posición de ocupación adicional para el protón H98a (protón unido a O39), pero no se refinó como tal.

30 La estructura perfeccionada se representó usando el paquete de representación SHELXTL (Figura 8). La configuración absoluta se determinó por el procedimiento de Flack (H. D. Flack, *Acta Crystallogr.*, **A39**, 876,1983). Las coordenadas, factores de temperatura anisótropa, distancias y ángulos están disponibles como material complementario (Tablas 25-2 a 25-5).

Tabla 25-1.

35 Datos de cristal y refinamiento de estructura para Ejemplo 25.

	Formula empírica	$C_{22} H_{25} C_{11} O_7 \cdot C_5 H_7 N_1 O_3 \cdot 0,1(H_2O)$	
	Peso de fórmula	567,79	
	Temperatura	570(2) K	
	Longitud de onda	1,54178 Å	
40	Sistema de cristalización	Ortorómbico	
	Grupo separador	P2(1)2(1)2(1)	
	Dimensiones de celda unitaria	a = 7,4907(10) Å	$\alpha = 90^\circ$.
		b = 12,8626(15) Å	$\beta = 90^\circ$.
		c = 28,029(4) Å	$\gamma = 90^\circ$.
45	Volumen	2700,6(6) Å ³	
	Z	4	
	Densidad (calculada)	1,396 Mg/m ³	
	Coeficiente de absorción	1,767 mm ⁻¹	

(continuación)

	F(000)	1196
	Tamaño de cristal	0,03 x 0,2 x 0,2 mm ³
	Intervalo de theta para recogida de datos	de 3,15 a 59,28°.
5	Intervalos de índice	-6<=h<=7, -13<=k<=14, -31<=l<=29
	Reflexiones recogidas	9116
	Reflexiones independientes	3759 [R(int) = 0,0275]
	Complejidad para theta = 59,28°	96,5%
	Corrección de absorción	Empírico
10	Procedimiento de refinamiento	Matriz completa de mínimos cuadrados en F ²
	Datos/limitaciones/parámetros	3759 / 0/ 387
	Bondad de ajuste en F ²	1,032
	Índices R finales [<i>I</i> >2sigma(<i>I</i>)]	R1 = 0,0358, wR2 = 0,0885
	Índices R (todos los datos)	R1 = 0,0418, wR2 = 0,0920
15	Parámetro de estructura absoluto	0,010(18)
	Coefficiente de extinción	0,00067(17)
	Mayor dif. de pico y valle	0,171 y -0,136 e. Å ⁻³

Tabla 25-2.

20 Coordenadas atómicas (x 10⁴) y parámetros de desplazamiento isótropo equivalentes (Å² x 10³) para el Ejemplo 25.
U(eq) se define como un tercio de la traza del tensor U_{ij} ortogonalizado.

	x	y	z	U (eq)
C(1)	1385(7)	9812(3)	634(2)	89(1)
C(2)	1302(6)	8776(3)	399(2)	81(1)
O(3)	2546(3)	8104(1)	625(1)	55(1)
C(4)	2553(4)	7080(2)	489(1)	43(1)
C(5)	1555(5)	6676(2)	117(1)	54(1)
C(6)	1669(4)	5630(2)	13(1)	50(1)
C(7)	2745(4)	4966(2)	268(1)	42(1)
C(8)	3723(4)	5385(2)	639(1)	50(1)
C(9)	3643(4)	6423(2)	749(1)	49(1)
C(10)	2839(5)	3807(2)	157(1)	49(1)
C(11)	2248(4)	3159(2)	577(1)	40(1)
C(12)	467(4)	3074(2)	708(1)	44(1)
Cl(13)	-1197(1)	3652(1)	362(1)	59(1)
C(14)	-56(4)	2535(2)	1112(1)	46(1)
C(15)	1219(4)	2055(2)	1391(1)	44(1)
C(16)	3014(4)	2095(2)	1265(1)	36(1)
C(17)	3502(4)	2652(2)	864(1)	38(1)
C(18)	4335(3)	1493(2)	1560(1)	36(1)

(continuación)

	x	y	z	U (eq)
O(19)	3862(2)	420(1)	1544(1)	38(1)
C(20)	5478(4)	-95(2)	1690(1)	39(1)
C(21)	5397(4)	-1208(2)	1525(1)	50(1)
O(22)	4012(4)	-1782(2)	1739(1)	62(1)
C(23)	5592(4)	18(2)	2233(1)	40(1)
O(24)	7085(3)	-534(2)	2419(1)	52(1)
C(25)	5750(4)	1168(2)	2361(1)	43(1)
O(26)	5536(3)	1267(2)	2861(1)	61(1)
C(27)	4393(4)	1816(2)	2086(1)	39(1)
O(28)	4750(3)	2904(2)	2136(1)	50(1)
O(29)	6093(3)	1545(1)	1363(1)	44(1)
C(30)	6903(4)	529(2)	1425(1)	47(1)
O(31)	8289(3)	3646(2)	2167(1)	62(1)
C(32)	8567(4)	4451(3)	1935(1)	50(1)
C(33)	7407(5)	4857(3)	1544(1)	60(1)
C(34)	8309(7)	5813(3)	1364(2)	100(2)
C(35)	10008(5)	5932(3)	1666(1)	60(1)
N(36)	9939(4)	5092(2)	1990(1)	62(1)
C(37)	10097(5)	7035(3)	1889(1)	62(1)
O(38)	10174(4)	7793(2)	1636(1)	94(1)
O(39)	10136(4)	7059(2)	2353(1)	72(1)
O(99)	470(40)	9300(20)	1968(10)	97(10)

Tabla 25-3.

Longitudes de enlace [Å] y ángulos [°] para el Ejemplo 25.

C(1)-C(2)	1,486(5)
C(2)-O(3)	1,419(4)
O(3)-C(4)	1,371(3)
C(4)-C(9)	1,382(4)
C(4)-C(5)	1,385(4)
C(5)-C(6)	1,379(4)
C(6)-C(7)	1,375(4)
C(7)-C(8)	1,381(4)
C(7)-C(10)	1,525(4)
C(8)-C(9)	1,371(4)
C(10)-C(11)	1,509(4)
C(11)-C(12)	1,388(4)
C(11)-C(17)	1,398(4)

(continuación)

C(12)-C(14)	1,382(4)
C(12)-Cl(13)	1,746(3)
C(14)-C(15)	1,381(4)
C(15)-C(16)	1,391(4)
C(16)-C(17)	1,381(4)
C(16)-C(18)	1,504(4)
C(18)-O(19)	1,426(3)
C(18)-O(29)	1,430(3)
C(18)-C(27)	1,532(4)
O(19)-C(20)	1,440(3)
C(20)-C(21)	1,507(4)
C(20)-C(23)	1,529(4)
C(20)-C(30)	1,529(4)
C(21)-O(22)	1,408(4)
C(23)-O(24)	1,424(3)
C(23)-C(25)	1,527(4)
C(25)-O(26)	1,418(3)
C(25)-C(27)	1,523(4)
C(27)-O(28)	1,430(3)
O(29)-C(30)	1,452(3)
O(31)-C(32)	1,239(4)
C(32)-N(36)	1,327(4)
C(32)-C(33)	1,494(4)
C(33)-C(34)	1,491(5)
C(34)-C(35)	1,539(5)
C(35)-N(36)	1,443(4)
C(37)-O(38)	1,206(4)
C(37)-O(39)	1,301(4)
O(3)-C(2)-C(1)	108,8(3)
C(4)-O(3)-C(2)	117,8(2)
O(3)-C(4)-C(9)	116,4(3)
O(3)-C(4)-C(5)	124,5(2)
C(9)-C(4)-C(5)	119,1(3)
C(6)-C(5)-C(4)	119,5(3)
C(7)-C(6)-C(5)	122,1(3)
C(6)-C(7)-C(8)	117,4(3)
C(6)-C(7)-C(10)	121,9(3)
C(8)-C(7)-C(10)	120,7(3)

(continuación)

C(9)-C(8)-C(7)	121,8(3)
C(8)-C(9)-C(4)	120,1(3)
C(11)-C(10)-C(7)	111,6(2)
C(12)-C(11)-C(17)	117,2(2)
C(12)-C(11)-C(10)	122,1(3)
C(17)-C(11)-C(10)	120,6(3)
C(14)-C(12)-C(11)	121,9(3)
C(14)-C(12)-Cl(13)	117,8(2)
C(11)-C(12)-Cl(13)	120,4(2)
C(15)-C(14)-C(12)	119,5(3)
C(14)-C(15)-C(16)	120,5(3)
C(17)-C(16)-C(15)	118,8(3)
C(17)-C(16)-C(18)	122,7(2)
C(15)-C(16)-C(18)	118,4(2)
C(16)-C(17)-C(11)	122,2(3)
O(19)-C(18)-O(29)	105,1(2)
O(19)-C(18)-C(16)	108,5(2)
O(29)-C(18)-C(16)	111,6(2)
O(19)-C(18)-C(27)	107,5(2)
O(29)-C(18)-C(27)	109,5(2)
C(16)-C(18)-C(27)	114,1(2)
C(18)-O(19)-C(20)	103,16(19)
O(19)-C(20)-C(21)	108,4(2)
O(19)-C(20)-C(23)	106,7(2)
C(21)-C(20)-C(23)	113,5(2)
O(19)-C(20)-C(30)	101,9(2)
C(21)-C(20)-C(30)	112,1(2)
C(23)-C(20)-C(30)	113,3(2)
O(22)-C(21)-C(20)	113,3(3)
O(24)-C(23)-C(25)	109,6(2)
O(24)-C(23)-C(20)	111,2(2)
C(25)-C(23)-C(20)	109,3(2)
O(26)-C(25)-C(27)	112,1(2)
O(26)-C(25)-C(23)	108,1(2)
C(27)-C(25)-C(23)	111,1(2)
O(28)-C(27)-C(25)	111,2(2)
O(28)-C(27)-C(18)	111,4(2)
C(25)-C(27)-C(18)	110,9(2)

(continuación)

C(18)-O(29)-C(30)	107,28(19)
O(29)-C(30)-C(20)	103,8(2)
O(31)-C(32)-N(36)	126,0(3)
O(31)-C(32)-C(33)	125,4(3)
N(36)-C(32)-C(33)	108,6(3)
C(34)-C(33)-C(32)	105,9(3)
C(33)-C(34)-C(35)	106,9(3)
N(36)-C(35)-C(37)	116,5(3)
N(36)-C(35)-C(34)	102,8(3)
C(37)-C(35)-C(34)	112,1(3)
C(32)-N(36)-C(35)	115,8(3)
O(38)-C(37)-O(39)	124,4(4)
O(38)-C(37)-C(35)	119,8(3)
O(39)-C(37)-C(35)	115,8(3)

Tabla 25-4.

Parámetros de desplazamiento anisótropo ($\text{\AA}^2 \times 10^3$) para Ejemplo 25. El exponente de factor de desplazamiento anisótropo adopta la forma:

$$-2\pi^2 [h^2 a^{*2} U_{11} + \dots + 2 h k a^* b^* U_{12}]$$

	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{23}	U_{13}	U_{12}
C(1)	115(4)	49(2)	104(3)	-20(2)	-54(3)	31(2)
C(2)	95(3)	52(2)	95(3)	-12(2)	-47(2)	23(2)
O(3)	62(1)	36(1)	68(1)	-3(1)	-17(1)	6(1)
C(4)	45(2)	35(2)	49(2)	1(1)	1(1)	0(1)
C(5)	61(2)	43(2)	59(2)	4(2)	-16(2)	9(2)
C(6)	61(2)	43(2)	47(2)	2(1)	-13(1)	0(2)
C(7)	50(2)	36(2)	41(1)	6(1)	7(1)	-2(1)
C(8)	58(2)	44(2)	49(2)	9(1)	-9(2)	7(2)
C(9)	54(2)	43(2)	50(2)	2(1)	-12(1)	3(1)
C(10)	63(2)	40(2)	43(2)	6(1)	5(1)	6(1)
C(11)	52(2)	27(1)	41(1)	0(1)	4(1)	-2(1)
C(12)	50(2)	29(2)	52(2)	0(1)	-4(1)	-4(1)
Cl(13)	59(1)	51(1)	66(1)	7(1)	-16(1)	4(1)
C(14)	40(2)	35(2)	64(2)	7(1)	4(1)	-2(1)
C(15)	44(2)	39(2)	50(2)	11(1)	7(1)	-4(1)
C(16)	41(2)	25(1)	42(1)	3(1)	2(1)	-3(1)
C(17)	36(2)	31(2)	45(2)	0(1)	5(1)	-3(1)
C(18)	36(2)	28(1)	43(1)	3(1)	4(1)	-7(1)
O(19)	40(1)	28(1)	45(1)	2(1)	-5(1)	-5(1)

(continuación)

	U_{11}	U_{22}	U_{33}	U_{23}	U_{13}	U_{12}
C(20)	40(2)	30(2)	47(2)	1(1)	-6(1)	2(1)
C(21)	57(2)	33(2)	60(2)	-3(2)	-12(2)	6(1)
O(22)	77(2)	37(1)	73(2)	6(1)	-21(1)	-14(1)
C(23)	42(2)	32(2)	47(2)	2(1)	-8(1)	-2(1)
O(24)	58(1)	37(1)	62(1)	8(1)	-18(1)	-3(1)
C(25)	52(2)	36(2)	42(2)	0(1)	-7(1)	-8(1)
O(26)	100(2)	40(1)	43(1)	-1(1)	-9(1)	-9(1)
C(27)	45(2)	28(1)	43(1)	-2(1)	0(1)	-6(1)
O(28)	55(2)	28(1)	69(1)	-6(1)	-7(1)	-3(1)
O(29)	36(1)	39(1)	56(1)	8(1)	7(1)	-4(1)
C(30)	48(2)	38(2)	56(2)	2(1)	-1(1)	8(1)
O(31)	62(2)	56(1)	70(1)	7(1)	-9(1)	-12(1)
C(32)	48(2)	45(2)	57(2)	-9(2)	-3(2)	1(2)
C(33)	57(2)	64(2)	58(2)	-7(2)	-12(2)	2(2)
C(34)	135(4)	78(3)	87(3)	18(2)	-58(3)	-19(3)
C(35)	55(2)	61(2)	64(2)	5(2)	7(2)	-3(2)
N(36)	53(2)	61(2)	72(2)	11(2)	-22(2)	-9(2)
C(37)	49(2)	65(2)	72(2)	5(2)	-1(2)	6(2)
O(38)	116(2)	70(2)	95(2)	19(2)	-2(2)	-11(2)
O(39)	79(2)	69(2)	70(2)	2(1)	0(1)	3(1)
O(99)	90(20)	110(20)	89(19)	-60(18)	-2(15)	29(17)

Tabla 25-5.

Coordenadas de hidrógeno ($\times 10^4$) y parámetros de desplazamiento isótropo ($\text{\AA}^2 \times 10^{-3}$) para Ejemplo 25.

	x	y	z	U(eq)
H(1A)	1080	9742	965	134
H(1B)	557	10275	482	134
H(1C)	2571	10087	606	134
H(2A)	107	8492	427	97
H(2B)	1587	8843	63	97
H(5)	813	7106	-61	65
H(6)	998	5365	-239	60
H(8)	4455	4952	819	60
H(9)	4323	6685	999	59
H(10A)	2083	3655	-115	58
H(10B)	4055	3623	73	58

(continuación)

	x	y	z	U(eq)
H(14)	-1256	2497	1194	56
H(15)	875	1701	1665	53
H(17)	4703	2691	782	45
H(21A)	5235	-1219	1181	60
H(21B)	6528	-1543	1595	60
H(97D)	3240(80)	-1700(40)	1620(20)	120(20)
H(23)	4498	-261	2375	48
H(97C)	6720(50)	-1040(30)	2557(13)	78(14)
H(25)	6950	1407	2275	52
H(97B)	5570(50)	1910(30)	2942(14)	79(13)
H(27)	3214	1680	2224	46
H(97A)	5800(50)	2990(30)	2137(12)	60(12)
H(30A)	7992	577	1611	57
H(30B)	7175	214	1119	57
H(33A)	7294	4347	1291	71
H(33B)	6226	5021	1664	71
H(34A)	7528	6411	1397	120
H(34B)	8616	5735	1030	120
H(35)	11047	5874	1457	72
H(99)	10740(50)	4950(20)	2171(11)	49(10)
H(98A)	9670(60)	6410(30)	2507(15)	95(14)

Ejemplo 26

Cocrystal de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (compuesto del Ejemplo 4A) y ácido L-pirolglutámico

5 RMN de estado sólido:

- Aproximadamente 80 mg de cocrystal de (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol (compuesto del Ejemplo 4A) y ácido L-pirolglutámico preparados usando el procedimiento que se ha descrito en el Esquema 2 se introdujeron firmemente en un rotor de ZrO₂ de 4 mm. Los espectros se recogieron a temperatura y presión ambiente en una sonda de CPMAS BL de 4 mm de Bruker-Biospin colocada en un espectrómetro de RMN de 500 MHz de gran calibre de Bruker-Biospin DSX (frecuencia ¹H). El rotor lleno se orientó hacia el ángulo mágico y se centrífugo a 15,0 kHz. Se recogió el espectro de estado sólido de ¹³C usando un experimento de rotación en ángulo mágico con polarización cruzada desacoplado de protones (CPMAS). El tiempo de contacto de polarización cruzada se ajustó en 2,0 ms. Se aplicó un campo de desacoplamiento de protones de aproximadamente 85 kHz. Se recogieron 1448 exploraciones con un retraso de reciclado de 14 segundos. Se hizo referencia al espectro de carbono usando un patrón externo de adamantano cristalino, ajustando su resonancia de campo alto a 29,5 ppm. Los datos de cambio químico dependen de las condiciones de ensayo (es decir, velocidad de rotación y portamuestras), material de referencia y parámetros de procesamiento de datos, entre otros factores. Típicamente, los resultados de RMN-es tienen un margen de error de sólo ± 0,2 ppm.

Cambios químicos de carbono observados.

- 20 Picos característicos tienen un asterisco.

Todos los picos son (± 0,2 ppm)

Cambios Químicos de ^{13}C [ppm] ^a	Intensidad ^b
16,5*	9,3
2,31	4,8
30,5	4,5
42,5	4,9
56,7	4,5
61,0	6,2
63,0	7,6
69,4	8,0
70,0	7,2
74,7	8,4
80,2	6,0
85,3	11,4
110,1	10,0
110,4	7,9
117,7	7,1
127,9	5,7
128,7	6,2
130,0	6,9
131,1*	12,0
132,2	6,5
134,4	0,8
137,8	5,9
140,3	5,3
158,7*	7,9
174,7	4,5
181,5*	5,0
(a) Con referencia a una muestra externa de adamantano en fase sólida a 29,5 ppm.	
(b) Definido como alturas de pico. Las intensidades pueden variar dependiendo del ajuste real de los parámetros experimentales de CPMAS y el historial térmico de la muestra. Las intensidades de CPMAS no son necesariamente cuantitativas.	

El espectro de CPMAS de ^{13}C de RMNES del Ejemplo 26 se muestra en la Figura 9. Los picos marcados con asteriscos en la Figura 9 son bandas laterales de rotación.

Ensayos farmacológicos

- 5 La práctica de la presente invención para el tratamiento de enfermedades moduladas por la inhibición de SGLT2 se puede evidenciar por actividad en al menos uno de los protocolos descritos en el presente documento más adelante.

Ensayos biológicos

Ensayo *in vitro*

- 10 El ensayo funcional de SGLT2 se diseñó para detectar la inhibición de captación de metil-alfa-d-glucopiranosido (AMG -una forma no metabolizable de glucosa) a través del transportador SGLT2. El transportador SGLT2 recupera glucosa de los túbulos proximales del riñón; su inhibición da como resultado azúcar perdida en la orina. El

compuesto de control positivo, Floricina, es un inhibidor conocido de la captación de glucosa por SGLT2 y se usó para comparar el efecto de alto porcentaje de inhibición de SGLT2 de los compuestos de ensayo.

5 Células CHO-FlpIn (Invitrogen, Carlsbad, CA) que expresaban de forma estable SGLT2 humano (pcDNA5/FRT) se sembraron en placas de 96 pocillos Iso-TC (Perkin Elmer, Waltham, MA) a una densidad de 100.000 células/pocillo en 100 microl de medio de cultivo (1:1 medio F-12/DMEM (Gibco, Carlsbad, CA), FBS al 10% (Sigma, San Luis, MO), Pen/Estrep 1X (Gibco, Carlsbad, CA), 600 microg/ml de Higromicina (Invitrogen, Carlsbad, CA)). Antes del

10 tratamiento con compuesto de ensayo, células confluentes se privaron de suero durante 2 horas a 37°C en 1:1 medio F-12/DMEM, reemplazando con medio F-12/DMEM nuevo después de 1 hora. Los compuestos de ensayo en dimetilsulfóxido (Sigma, San Luis, MO) se diluyeron 100 veces en tampón de captación (NaCl 140 mM (Promega, Madison, WI), KCl 2 mM (Promega, Madison, WI), CaCl₂ 1 mM (Teknova, Hollister, CA), MgCl₂ 1 mM (Teknova, Hollister, CA) y HEPES 10 mM (Gibco, Carlsbad, CA) a placas de células pre-aclaradas con tampón de captación. Las células se pre-incubaron con compuesto de ensayo durante 15 minutos antes de la adición de 50 microlitros de

15 AMG (AMG [U-¹⁴C] 40 nCi (Perkin Elmer, Waltham, MA) en AMG no etiquetado (Aldrich, San Luis, MO)) por pocillo produciendo una concentración final de AMG de 11,33 microM. Después, las placas celulares se incubaron durante 3 horas a 37°C para captación de AMG. Después de la incubación, las células se lavaron dos veces con tampón de lavado enfriado con hielo (tampón de captación que contenía Floricina 200 microM (Sigma), se secaron al aire y se lisaron en 30 microl de NaOH 200 mM y tampón SDS al 1% en un agitador orbital. Se añadió Microscint 40 (Perkin Elmer, Waltham, MA) a las células lisadas (dando un volumen final de 200 microl) y se mezcló mediante agitación orbital durante 30 minutos. Las placas se almacenaron en la oscuridad durante la noche y se cuantificaron en el

20 1540 Microbeta Trilux (Wallac, Waltham, MA) usando un protocolo normalizado para detección de ¹⁴C. El efecto porcentual de compuestos de ensayos para inhibir captación de AMG se calculó usando el siguiente cálculo:

$$[\% \text{ Efecto} = ((\text{ZPE-T})/(\text{ZPE-HPE})) \times 100\%]$$

25 donde "ZPE" son los recuentos corregidos por minuto (CCPM) en pocillos de control que contenían DMSO al 0,5%, T es el CCPM en pocillos que contenían compuesto de ensayo a diversas concentraciones de la curva normal y HPE es el efecto porcentual alto que se refiere al CCPM en pocillos de control que contienen Floricina 10 microM. Los valores de CI₅₀ se calcularon usando una ecuación de dosis respuesta y se resumen para los compuestos ensayados en la Tabla 3.

Las abreviaturas usadas en la descripción de ensayo *in vitro* incluyen:

SGTL2	co-transportador de sodio/glucosa de tipo 2
AMG	metil- α -D glucopiranosido
DMEM	Medio Eagle Modificado de Dulbecco
CI50	Concentración de Inhibición del 50%
FBS	Suero Fetal Bovino
DMSO	Dimetilsulfóxido
SDS	Dodecil Sulfato Sódico
CHO-FlpIn	Células de Ovario de Hámster Chino que contienen el sitio FRT

Tabla 3

Compuesto de ensayo	Nº de Ejecución	CI ₅₀ de hSGLT1 nM	CI ₅₀ de hSGLT2 nM
1A	1	1080	1,55
	2	454	1,15
	3	327	0,779
	4	562	0,715
	5	262	0,654
	6	359	1,61
2A	1	1240	0,827
	2	>1000	1,53
	3	>1000	0,942
	4	>1000	0,741

ES 2 380 408 T3

(continuación)

Compuesto de ensayo	Nº de Ejecución	Cl ₅₀ de hSGLT1 nM	Cl ₅₀ de hSGLT2 nM
	5	679	1,58
	6	no determinado	1,05
3A	1	543	0,479
	2	397	0,972
	3	550	1,39
	4	757	0,811
	5	523	0,602
	6	672	0,588
	7	380	1,35
3B	1	>10.000	41,6
	2	>10.000	40,8
	3	>10.000	27,9
	4	no determinado	62,2
4A	1	1590	1,27
	2	1010	0,816
	3	1750	0,57
	4	>1000	0,922
	5	>1000	1,85
	6	2090	0,812
	7	1810	0,7
	8	2860	0,737
	9	2480	0,846
	10	2840	0,768
4B	1	>1000	122
	2	>10.000	66,8
	3	no determinado	81,7
5A	1	>10.000	4,5
	2	>1000	81,7
	3	5790	2,42

ES 2 380 408 T3

(continuación)

Compuesto de ensayo	Nº de Ejecución	Cl ₅₀ de hSGLT1 nM	Cl ₅₀ de hSGLT2 nM
	4	no determinado	1,77
5B	1	>10.000	186
6A	1	>10.000	18,7
	2	>1000	9,99
	3	>1000	13,5
	4	>1000	13,4
	5	8930	5,71
	6	no determinado	7,67
7A	1	>1000	10,6
	2	>10.000	6,38
	3	>1000	5,88
	4	no determinado	6,11
10A	1	>10.000	4,08
	2	>3330	33,4
	3	>3160	2,54
10B	1	>10.000	127
	2	>10.000	103
11A	1	>10.000	9,6
	2	>10.000	11,9
	3	>10.000	19,8
	4	>10.000	7,13
12A	1	>10.000	11,1
	2	5780	7,41
	3	>10.000	8,85
	4	>10.000	0,802
	5	>10.000	10,7
	6	>10.000	14,1
12B	1	>3160	32,3

(continuación)

Compuesto de ensayo	Nº de Ejecución	Cl ₅₀ de hSGLT1 nM	Cl ₅₀ de hSGLT2 nM
13A	1	>10.000	14,9
	2	>10.000	17,8
14A	1	>10.000	2,28
	2	>10.000	3,12
	3	>10.000	2,39
	4	>10.000	2,87

Ensayo *in vivo*

Los ejemplos 1A y 4A se ensayaron en ratas para evaluar la inhibición de transporte de glucosa a través de la excreción de glucosa por vía urinaria. Ratas macho Sprague Dawley (~300 g) se estabularon individualmente en jaulas metabólicas para recolección de orina. Las ratas tenían acceso a pienso de laboratorio convencional y agua a discreción. Las ratas (N=2 para 5/grupo) recibieron vehículo o compuesto por sonda oral. Las soluciones de dosificación fueron 0,03 mg/ml, 0,3 mg/ml, 0,9 mg/ml, 3 mg/ml, 9 mg/ml y 18 mg/ml para las dosis de 0,1 mg/kg, 1 mg/kg, 3 mg/kg, 10 mg/kg, 30 mg/kg y 60 mg/kg, respectivamente. El volumen de dosis fue 1 ml/300 g de peso corporal para todas las dosis. Un grupo recibió una dosis de 10 mg/kg de Ejemplo 1A y otros recibieron dosis de 0,1, 1, 3, 10, 30 ó 60 mg/kg de Ejemplo 4A. El vehículo fue PEG 400 al 20% v/v e hidroxipropil beta ciclodextrina al 24% v/v; HPBCD. A continuación de la administración oral, se recogió la orina durante 24 horas. La concentración de glucosa se midió en orina mediante espectrofotometría de absorbancia de UV a 340 nm usando un espectrofotómetro Roche Hitachi 917 (Diamond Diagnostics, Holliston, MA). La cantidad total de glucosa excretada en la orina se calculó como el producto de concentración de orina y volumen de orina usando la formula a continuación:

glucosa urinaria excretada (mg)/200 g de peso corporal = concentración de glucosa urinaria (mg/dl) x volumen de orina (dl) x 200/peso corporal de rata (g). Las cantidades de glucosa urinaria excretada (GUE) se obtuvieron de ratas para el Ejemplo 1A y el Ejemplo 4A mediante el procedimiento descrito anteriormente y se muestran en la Tabla 4. Se recogió sangre (0,1 ml) de los animales de grupo satélite de PK a 1, 2, 4, 7 y 24 horas después de la dosis para obtener plasma y se analizó por CL-EM/EM. Los parámetros de PK medios en las diversas dosis ensayadas se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4

Compuesto	Dosis (mg/kg)	GUE media (mg/200 g de peso corporal) ± ETM (n=5)	Parámetros de PK medios (n=2)		
			C _{max} (ng/ml)	t _{max} (h)	ABC(0-24) (ng*h/ml)
Ejemplo 1A	10	2049 ± 382,2	1260	1,00	6630
Ejemplo 4A	0,1	389,0 ± 62,54	43,4	1,50	188
Ejemplo 4A	1	1519 ± 52,02	372	1,00	2000
Ejemplo 4A	3	1937 ± 101,1	1320	1,00	7080
Ejemplo 4A	10	2145 ± 132,3	3100	2,50	26400
Ejemplo 4A	30	2554 ± 141,1	10500	1,00	10700
Ejemplo 4A	60	2437 ± 116,7	25300	2,00	233000
ETM: Error típico de la media					

Ensayo farmacocinético en ratas

Los ejemplos 1A, 2A, 4A, 12A y 14A se ensayaron en ratas para evaluar los parámetros farmacocinéticos incluyendo concentración máxima (C_{max}), área bajo la curva de concentración de plasma tiempo (ABC), eliminación (CL), volumen de distribución de estado continuo (V_{ss}), semivida (t_{1/2}) y biodisponibilidad (F). Se usaron ratas macho Sprague Dawley (~ 300 g). Las ratas recibieron compuesto mediante administración intravenosa (IV) o sonda oral (PO) y las dosis ensayadas que incluyen vehículo para formular soluciones de dosificación se enumeran en la Tabla 5.

A continuación de la administración IV o PO, se extrajeron muestras de 0,2 ml de sangre de la vena yugular en diversos puntos de tiempo (Tabla 5). Alícuotas de veinte microlitros de muestras de plasma y patrones se sometieron a precipitación de proteínas con acetonitrilo que contenía un patrón interno. Las muestras se agitaron en vórtex y se centrifugaron para obtener sobrenadante que se analizó mediante CL-EM/EM. Se usó Analyst (Versión 1.4.1) para medir áreas de pico y se calcularon proporciones de áreas de pico de analito a patrón interno. Las condiciones de CL-EM/EM son las siguientes: Espectrómetro de Masas + Tipo de Fuente fue Sciex API 4000 - Turbo Spray; la bomba de HPLC fue Shimadzu; el Automuestreador fue CTC PAL Autosampler; el volumen de inyección fue 3,0 a 10 microl; se usó gradiente A con fase móvil A: acetato de amonio 10 mM y alcohol isopropílico al 1% en agua; B: Acetonitrilo; Caudal 0,300 ml por minuto (Columna 0,2 x 30 mm 5 micrómetros LUNA C18 column (phenomenex)). El modo de detección fue negativo.

Se construyó una curva de calibrado a partir de las proporciones de área de pico de los patrones al patrón interno aplicando una regresión lineal ponderada (1/x o 1/x²). El intervalo dinámico de la curva normal fue 5,00 ng/ml a 5000 ng/ml.

Los parámetros farmacocinéticos se determinaron a partir de datos de animales individuales usando análisis no compartimental en Watson (versión 7.2). Las concentraciones inferiores al límite de cuantificación (ILC) se registraron como 0 ng/ml para uso en cálculos.

Se usaron los siguientes cálculos:

ABC(O-τ) = Determinado usando el método trapezoidal lineal

ABC(O-∞) = ABC(O-τ) más el área extrapolada determinada dividiendo la concentración de plasma en τ entre la pendiente de la fase logarítmica lineal terminal

CL = Dosis/ABC(O-∞)

V_{dss} = CL x MRT

C_{max} = Registrada directamente a partir de la curva de concentración en plasma tiempo

T_{max} = Registrada directamente a partir de la curva de concentración de plasma tiempo

t_{1/2} = ln(0,5)/pendiente de la fase logarítmica lineal terminal

%F = ABC(O-∞)PO por dosis/ABC(O-∞) IV por dosis

C(0) = Extrapolado mediante regresión lineal a partir de la fase de distribución aparente a continuación de la administración IV

MRT = ABCM (ABC(O-∞)/ABC(O-∞))

Tabla 5

Ejemplo	Dosis (mg/kg)	Vía /n	Formulación	Puntos de tiempo (h)	C _{max} (µg/ml)	ABC _{inf} (µg*h/ml)	CL (ml/m in/kg)	V _{ss} (l/kg)	t _{1/2} (h)	F (%)
4A	2	IV / (n=2)	DMSO/ PEG400/ SBECD al 30% (10/30/60 v/v/v)	0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 20	-	8,48	4,04	1,1	4,1	-
					0,5, 1, 2, 4, 7, 20	5,65	-	-	3,7	67
		PO/ (n=3)	Tween 80/MC al 0,5% (0,1/99,9 v/v)	1, 4, 7, 24	1,19	16,8	-	-	-	79
12A	2	IV / (n=2)	DMSO/ PEG400/ SBECD al 30% (5/10/85 v/v/v)	0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 5, 6, 7, 20	-	2,20	15,9	3,68	3,90	-

(continuación)

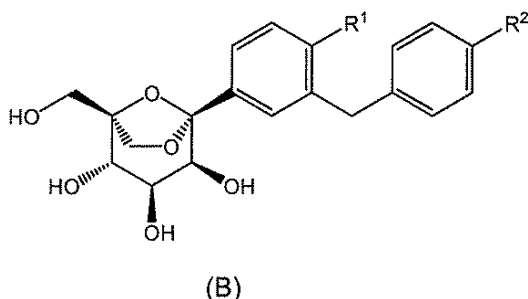
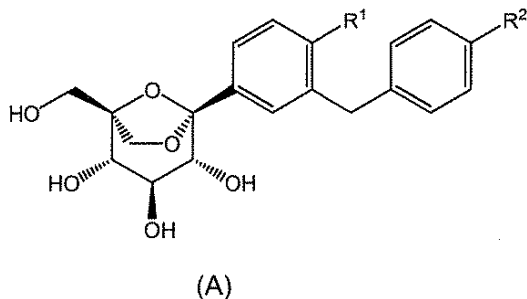
Ejemplo	Dosis (mg/kg)	Vía / n	Formulación	Puntos de tiempo (h)	Cmax (µg/ml)	ABC _{inf} (µg*h/ml)	CL (ml/m in/kg)	V _{ss} (l/kg)	t _{1/2} (h)	F (%)
1A	2	IV / (n=2)	DMA/ PG/ Base Tris 50 mM (5/10/85 v/v/v)	0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 20	-	0,947	37,1	1,71	0,962	-
	10	PO / (n=2)	PEG200/ MC al 0,5% (5/95 v/v)	0,25, 0,5, 0,75, 1, 2, 4, 6, 8, 20	1,65	2,68	-	-	2,82	56,5
14A	2	IV / (n=2)	DMSO/ PEG400/ SBECD al 30% (5/10/85 v/v/v)	0,25, 0,5, 1, 2, 4, 7, 20, 22	-	1,06	31,7	1,69	1,36	-
	10	PO / (n=2)	PEG200/ MC al 0,5% (5/95 v/v)	0,5, 1, 2, 4, 7, 20, 22	0,551	2,29	-	-	1,71	43,5
2A	2	IV / (n=2)	DMA/ PG/ Base Tris 50 mM (5/10/85 v/v/v)	0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 20	-	1,34	27,7	1,03	0,94	-

(continuación)

Ejemplo	Dosis (mg/kg)	Vía /n	Formulación	Puntos de tiempo (h)	Cmax (µg/ml)	ABC _{inf} (µg*h/ml)	CL (ml/m in/kg)	V _{ss} (l/kg)	t _{1/2} (h)	F (%)
3A	2	IV/ (n=2)	DMA/ PG/ Base Tris 50 mM (5/10/85 v/v/v)	0,083, 0,25, 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 20	-	1,41	23,8	1,82	1,58	-
-= Datos no disponibles o no aplicables; DMS = Dimetil Sulfoxido; HBCE = Hidroxipropil beta ciclodextrina; PEG = Polietilenglicol; PG = Propilenglicol; SBECE = Sulfobutíler beta ciclodextrina; MC = Metilcelulosa y DMA = Dimetilamina										

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de Fórmula (A) o de Fórmula (B)



en las que

- 5 R^1 es H, alquilo (C_1-C_4), alcoxi (C_1-C_4), Cl, F, ciano, alquilo (C_1-C_2) fluoro-sustituido, alquil (C_1-C_4)- SO_2 -, o cicloalquilo (C_3-C_6); y
 R^2 es alquilo (C_1-C_4), alcoxi (C_1-C_4), alquino (C_2-C_4), 3-oxetanilo, 3-tetrahidrofuranilo, Cl, F, ciano, alquilo (C_1-C_2) fluoro-sustituido, alquil (C_1-C_4)- SO_2 -, cicloalquilo (C_3-C_6) o un heterociclo (C_5-C_6) que tiene 1 ó 2 heteroátomos, cada uno seleccionado independientemente entre N, O o S.

10

2. El compuesto de la reivindicación 1 en el que dicho compuesto es un compuesto de Fórmula (A).

3. El compuesto de la reivindicación 1 ó 2 en el que

R^1 es H, metilo, etilo, propilo, isopropilo, metoxi, etoxi, F, Cl, ciano, $-CF_3$, ciclopropilo, o ciclobutilo; y

- 15 R^2 es metilo, etilo, propilo, isopropilo, metoxi, etoxi, F, Cl, ciano, $-CF_3$, $-CF_2CH_3$, etinilo, 3-oxetanilo, 3-tetrahidrofuranilo, o ciclopropilo.

4. El compuesto de la reivindicación 3 en el que

R^1 es H, metilo, etilo, isopropilo, metoxi, etoxi, F, Cl, ciano, $-CF_3$ o ciclopropilo; y

- 20 R^2 es metilo, etilo, isopropilo, metoxi, etoxi, F, Cl, ciano, $-CF_3$, $-CF_2CH_3$, etinilo, 3-oxetanilo, 3-tetrahidrofuranilo o ciclopropilo.

5. El compuesto de la reivindicación 4 en el que

R^1 es H, metilo, etilo, metoxi, etoxi, F, Cl, ciano, $-CF_3$ o ciclopropilo; y

- 25 R^2 es metilo, etilo, metoxi, etoxi, F, Cl, ciano, $-CF_3$, $-CF_2CH_3$, etinilo, 3-oxetanilo, 3-tetrahidrofuranilo o ciclopropilo.

6. El compuesto de la reivindicación 5 en el que

R^1 es metilo, etilo, F, Cl, ciano, CF_3 o ciclopropilo; y

- 30 R^2 es metoxi o etoxi.

7. Un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en:

(1S,2S,3S,4R,5S)-1-hidroximetil-5-[3-(4-metoxi-bencil)-4-metil-fenil]-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol;

(1S,2S,3S,4R,5S)-5-[3-(4-etoxi-bencil)-4-metil-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol;

- 35 (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxa-biciclo[3.2.1]octano-2,3,4-triol;

(1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8- dioxabencil-3.2.1]octano-2,3,4-triol;

(1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-fluoro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabencil-3.2.1]octano-2,3,4-triol;

2-(4-metoxibencil)-4-((1S,2S,3S,4R,5S)-2,3,4-trihidroxi-1-(hidroximetil)-6,8-dioxabencil-3.2.1]oct-5-il)benzonitrilo;

2-(4-etoxibencil)-4-((1S,2S,3S,4R,5S)-2,3,4-trihidroxi-1-(hidroximetil)-6,8-dioxabencil-3.2.1]oct-5-il)benzonitrilo;

5 (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[3-(4-etoxi-bencil)-4-fluoro-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabencil-3.2.1]octano-2,3,4-triol;

(1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-fluoro-3-[4-(tetrahydro-furan-3-iloxi)-bencil]-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabencil-3.2.1]octano-2,3,4-triol;

(1S,2S,3S,4R,5S)-5-[3-(4-clorobencil)-4-fluorofenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabencil-3.2.1]octano-2,3,4-triol;

10 (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-fluoro-3-[4-(oxetan-3-iloxi)-bencil]-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabencil-3.2.1]octano-2,3,4-triol; y

(1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-[4-(oxetan-3-iloxi)-bencil]-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabencil-3.2.1]octano-2,3,4-triol.

8. Un compuesto que es (1S,2S,3S,4R,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabencil-3.2.1]octano-2,3,4-triol.

15

9. Un compuesto seleccionado entre el grupo que consiste en:

(1S,2S,3S,4S,5S)-1-hidroximetil-5-[3-(4-metoxi-bencil)-4-metil-fenil]-6,8-dioxabencil-3.2.1]octano-2,3,4-triol;

(1S,2S,3S,4S,5S)-5-[3-(4-etoxi-bencil)-4-metil-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabencil-3.2.1]octano-2,3,4-triol;

(1S,2S,3S,4S,5S)-5-[4-cloro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabencil-3.2.1]octano-2,3,4-triol;

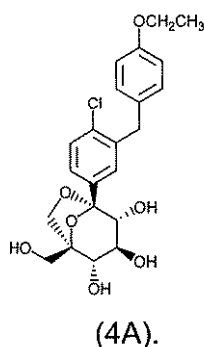
20 (1S,2S,3S,4S,5S)-5-[4-cloro-3-(4-etoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabencil-3.2.1]octano-2,3,4-triol;

(1S,2S,3S,4S,5S)-5-[4-fluoro-3-(4-metoxi-bencil)-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabencil-3.2.1]octano-2,3,4-triol;

(1S,2S,3S,4S,5S)-5-[3-(4-etoxi-bencil)-4-fluoro-fenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabencil-3.2.1]octano-2,3,4-triol; y

(1S,2S,3S,4S,5S)-5-[3-(4-clorobencil)-4-fluorofenil]-1-hidroximetil-6,8-dioxabencil-3.2.1]octano-2,3,4-triol.

25 10. Un cristal que comprende un compuesto que tiene la fórmula (4A):



11. El cristal de la reivindicación 10 que comprende además L-prolina o ácido L-piroglutámico.

30 12. El cristal de la reivindicación 10 que comprende además ácido L-piroglutámico y que tiene uno o más de los siguientes:

a) un grupo espaciador P2 (1) 2 (1) 2 (1) y parámetros celulares unitarios sustancialmente iguales a los siguientes:

a = 7,4907(10) Å α = 90°.

35 b = 12,8626(15) Å β = 90°.

c = 28,029(4) Å $\gamma = 90^\circ$;

b) un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende valores 2-theta de (radiación CuK α , longitud de onda de 1,54056Å) 6,4±0,2, 16,7±0,2, 17,4±0,2 y 21,1±0,2; o

5 c) un espectro de ^{13}C RMN en estado sólido que comprende posiciones de pico a 16,5±0,2, 131,1±0,2, 158,7±0,2 y 181,5±0,2 ppm según se determinan en un espectrómetro de 500 MHz con respecto a adamantino cristalino de 29,5 ppm.

13. El cristal de la reivindicación 10 que comprende además ácido L-piroglutámico en el que el cristal es un co-cristal que comprende el compuesto de fórmula (4A) y ácido L-piroglutámico en una relación estequiométrica 1:1.

10

14. El cristal de la reivindicación 10 que comprende además ácido L-piroglutámico y que tiene

b) un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende un valor 2-theta de (radiación CuK α , longitud de onda de 1,54056Å) 6,4±0,2; y

15 d) un espectro de RMN de ^{13}C en estado sólido que comprende posiciones de pico a 16,5±0,2, 158,7±0,2 y 181,5±0,2 ppm según se determinan en un espectrómetro de 500 MHz con respecto a adamantino cristalino de 29,5 ppm.

15. El cristal de la reivindicación 10 que comprende además L-prolina y que tiene uno o más de los siguientes:

a) un grupo espaciador C2 y parámetros celulares unitarios sustancialmente iguales a los siguientes:

20 a = 32,8399(16) Å $\alpha = 90^\circ$.

b = 7,2457(4) Å $\beta = 101,268(5)^\circ$.

c = 11,8023(6) Å $\gamma = 90^\circ$; o

b) un patrón de difracción de polvo de rayos X que comprende valores 2-theta de (radiación CuK α , longitud de onda de 1,54056Å) 7,6±0,2, 12,1±0,2, 20,3±0,2 y 28,8±0,2.

25

16. Una composición farmacéutica que comprende (i) un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 o un cristal de cualquiera de las reivindicaciones 10-15; y (ii) un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

30 17. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, un cristal de cualquiera de las reivindicaciones 10-15 o una composición farmacéutica de la reivindicación 16 para su uso como un medicamento.

35 18. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, un cristal de cualquiera de las reivindicaciones 10-15 o una composición farmacéutica de la reivindicación 16 para su uso en el tratamiento de obesidad y de trastornos relacionados con la obesidad en animales.

19. Un compuesto de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, un cristal de cualquiera de las reivindicaciones 10-15 o una composición farmacéutica de la reivindicación 16 para su uso en tratar o retrasar la progresión o el comienzo de la diabetes de Tipo 2 y de trastornos relacionados con la diabetes en animales.

40

FIG. 1

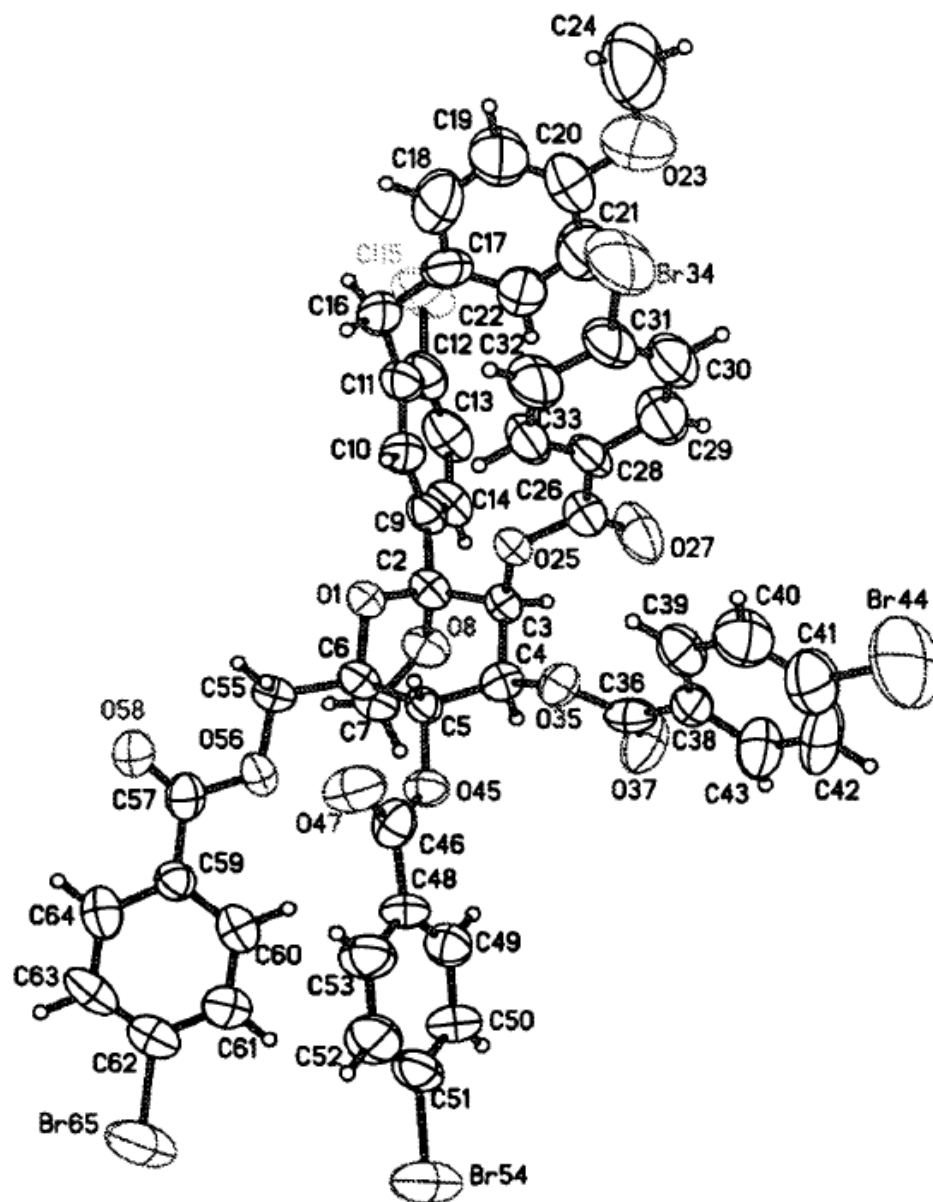
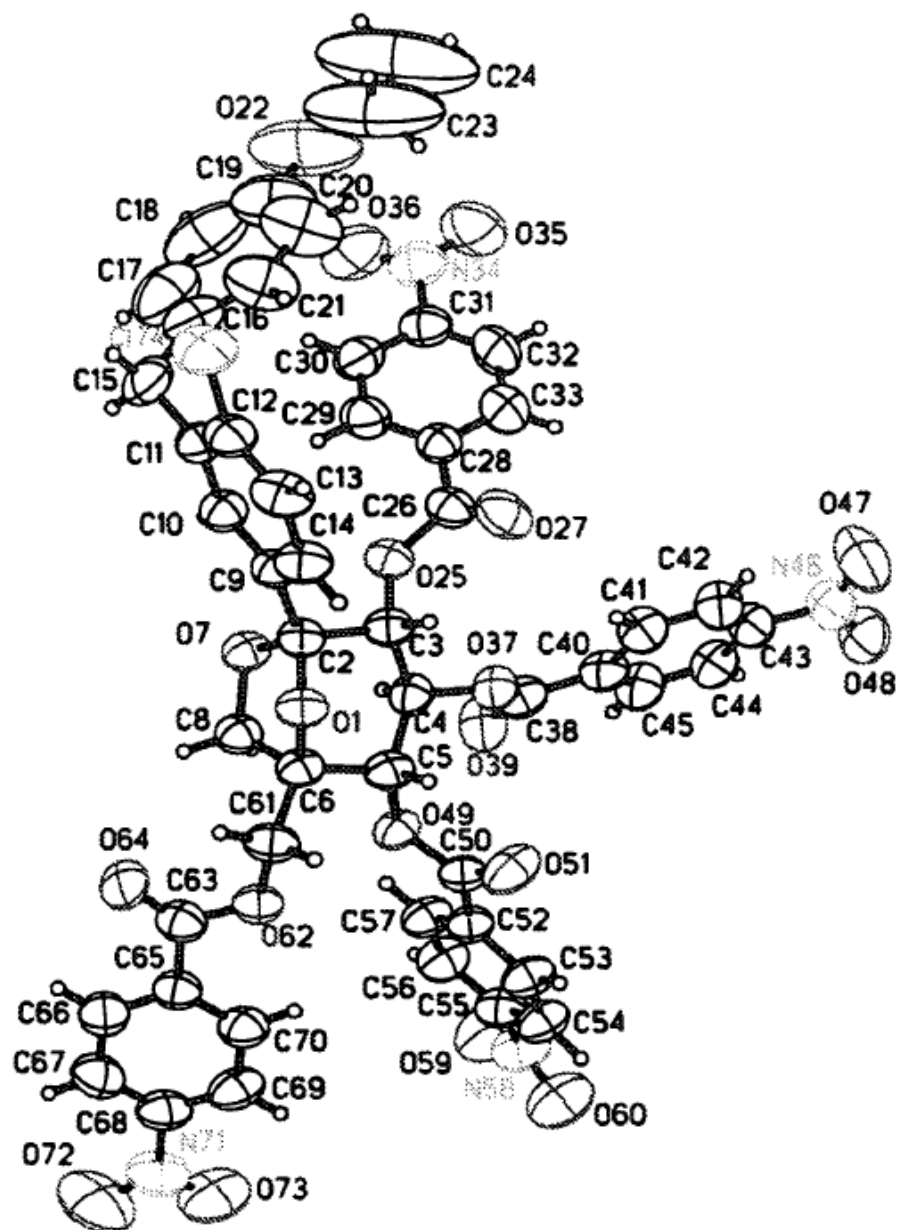
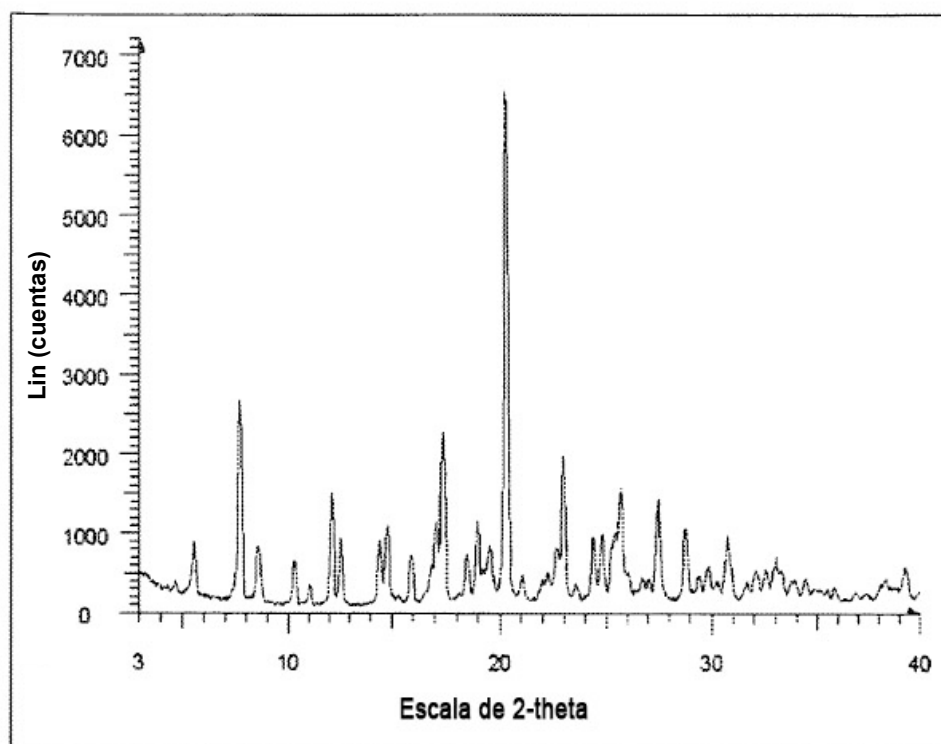


FIG. 2



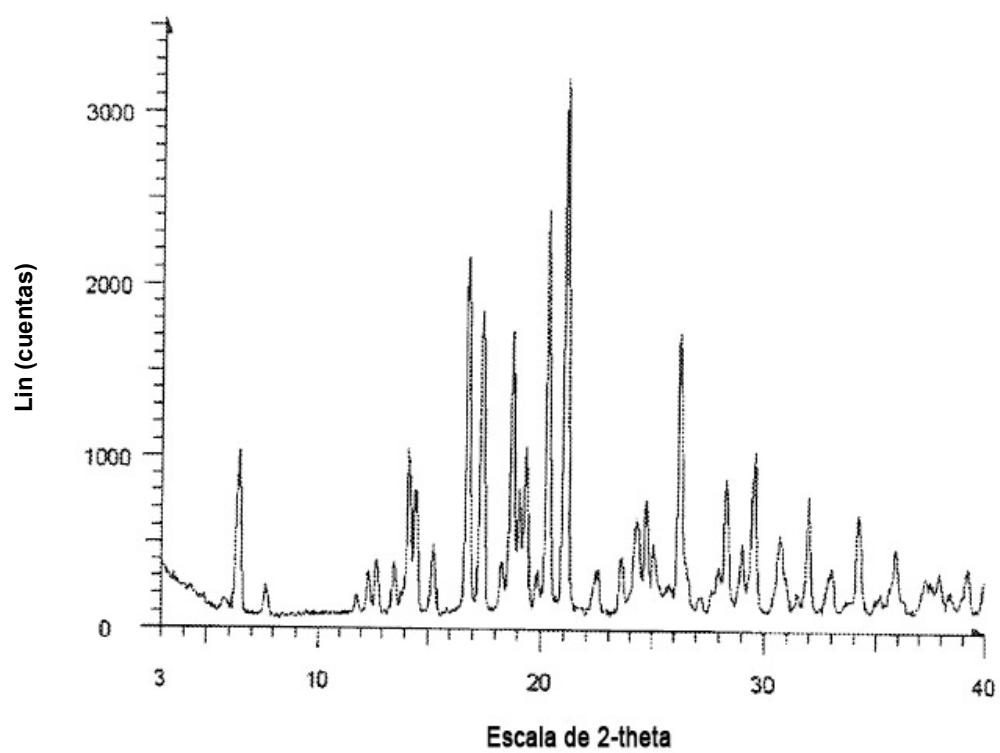
5

FIG. 3



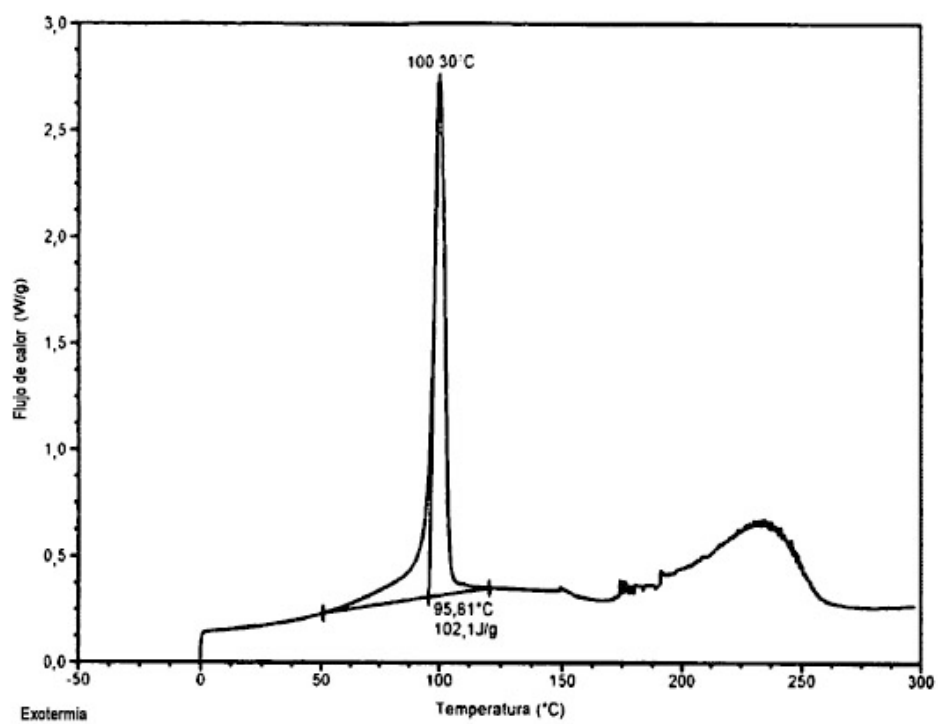
5

FIG. 4



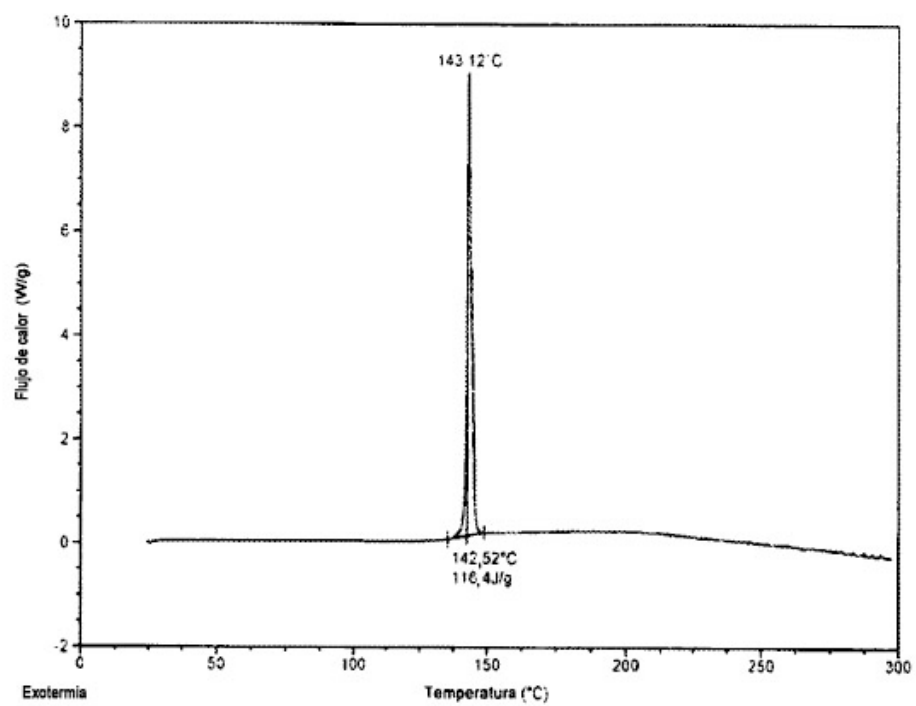
5

FIG. 5



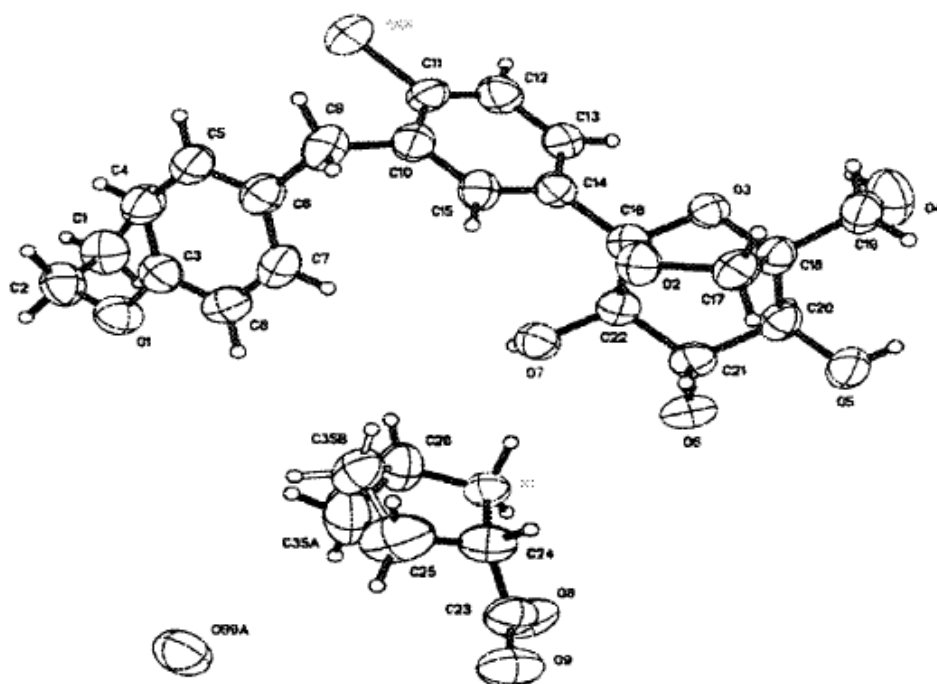
5

FIG. 6



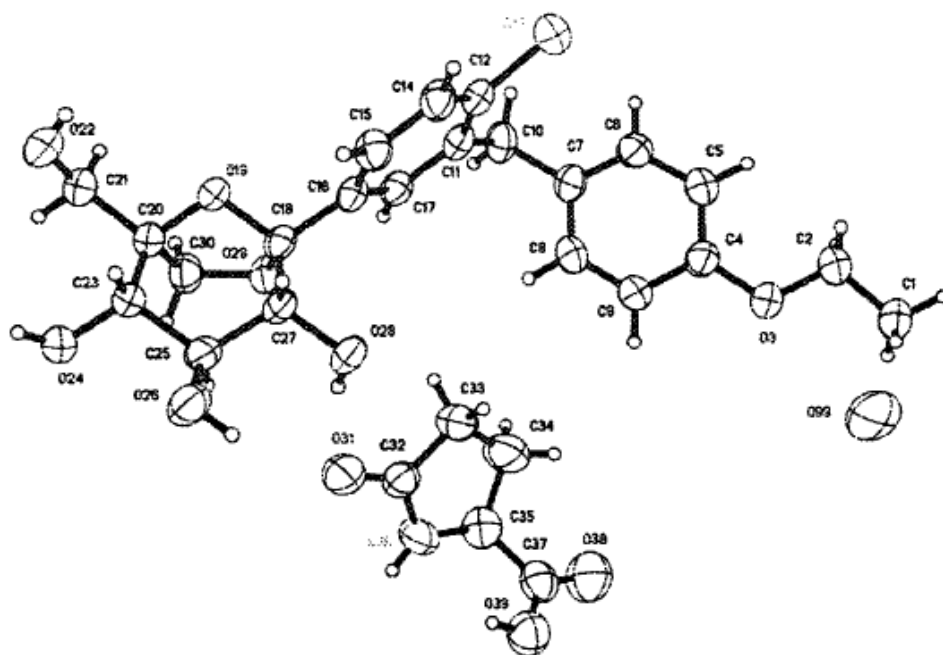
5

FIG. 7



5

FIG. 8



5

FIG. 9

