

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 399 323**

51 Int. Cl.:

C07D 295/185 (2006.01)

C07D 498/04 (2006.01)

C07D 319/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.07.2002 E 10075429 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.01.2013 EP 2266968**

54 Título: **Síntesis de inhibidores de la UDP-glucosa:N-acilesfingosina glucosiltransferasa**

30 Prioridad:

16.07.2001 US 305814 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

27.03.2013

73 Titular/es:

**GENZYME CORPORATION (100.0%)
500 Kendall Street
Cambridge, MA 02142 , US**

72 Inventor/es:

**HIRTH, BRADFORD y
SIEGEL, CRAIG**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 399 323 T3

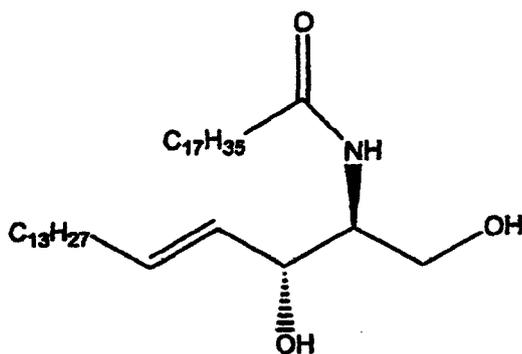
Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín europeo de patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar 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).

DESCRIPCIÓN

Síntesis de inhibidores de la UDP-glucosa:*N*-acilesfingosina glucosiltransferasa.

Antecedentes de la invención

5 Los glicosfingolípidos (GSLs) son una clase de compuestos existentes en la naturaleza que tienen una multitud de funciones biológicas, que incluyen la capacidad de promover el crecimiento celular, la diferenciación celular, la adhesión entre células o entre células y proteínas matriciales, la unión de microorganismos y virus a las células, y la metástasis de células tumorales. Los GSLs proceden de la glucosilceramida (GlcCer), que es producida a partir de la ceramida y la UDP-glucosa por la enzima UDP-glucosa:*N*-acilesfingosina glucosiltransferasa (GlcCer sintasa). La estructura de la ceramida se muestra a continuación:



10 Ceramida

La acumulación de GSLs ha sido relacionada con varias enfermedades, que incluyen las enfermedades de Tay-Sachs, de Gaucher y de Fabry (véase, por ejemplo, la patente de EE.UU. N° 6.051.598). Los GSLs también han sido relacionados con ciertos cánceres. Por ejemplo, se ha encontrado que ciertos GSLs aparecen sólo en tumores o en concentraciones anormalmente altas en tumores; ejercen notables acciones estimuladoras o inhibitorias sobre el crecimiento tumoral cuando se añaden a células tumorales en medios de cultivo; e inhiben el sistema de inmunodefensa normal del cuerpo cuando son segregados por los tumores en el fluido extracelular circundante. La composición de los GSLs de un tumor cambia según se van haciendo cada vez más malignos los tumores, y los anticuerpos a ciertos GSLs inhiben el crecimiento de los tumores.

20 Los compuestos que inhiben la GlcCer sintasa pueden disminuir las concentraciones de GSL, y se ha reportado que son útiles para tratar a un paciente con una de las enfermedades mencionadas anteriormente. Se describen varios inhibidores potentes de GlcCer, denominados en la presente memoria "compuestos similares a la amino-ceramida" en las patentes de EE.UU. Nos. 6.051.598, 5.952.370, 5.945.442, 5.916.911 y 6.030.995. El término "compuestos similares a la amino-ceramida" se refiere a análogos de la ceramida en los que: 1) el alcohol primario está reemplazado con un grupo amino sustituido; y 2) el grupo alquenilo está reemplazado con un grupo arilo, preferiblemente fenilo o fenilo sustituido. Los correspondientes compuestos *N*-desacilados se denominan "compuestos similares a la esfingosina".

30 Por desgracia, los métodos conocidos para preparar compuestos similares a la amino-ceramida son poco adecuados para la fabricación a escala industrial. Debido a los dos centros quirales, las síntesis más conocidas generan cuatro diastereoisómeros, dando como resultado la necesidad de separar los diastereoisómeros por cromatografía y de aislar el enantiómero deseado por cristalización después de una derivatización con reactivos ópticamente activos, p.ej., isómeros de ácido dibenzoiltartárico (véase, por ejemplo, Inokuchi y Radin, *Journal of Lipid Research*, 28:565 (1987)). Ninguno de los procedimientos son adaptables a preparaciones a gran escala. Se ha reportado la síntesis enantioselectiva de compuestos similares a la amino-ceramida usando reducciones diastereoselectivas (Mitchell, *et al.*, *J. Org. Chem.* 63:8837 (1998) y Nishida, *et al.*, *SYNLETT* 1998:389 (1998)), pero requieren más de diez etapas, algunas de las cuales utilizaban reactivos caros tales como el hidruro de diisobutilaluminio (DIABAL) y el Aldehído de Garner ((*R*)-(+)-4-formil-2,2-dimetil-3-oxazolidina-carboxilato de *tert*-butilo). Por tanto, hay una necesidad crítica de síntesis enantioselectivas de compuestos similares a la amino-ceramida que sean más económicas y eficaces, e impliquen menos etapas que las síntesis conocidas.

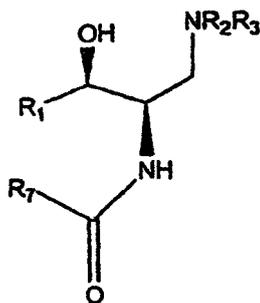
40 Lee *et al* (*J. Biol. Chem.*, 247(21), págs. 14662-14669 (1999)) describen inhibidores específicos de glucosilceramida sintasa. En particular, Lee *et al* describen sólo compuestos que tienen un grupo alcanilo C16 (palmitoilo) en el átomo de nitrógeno de la amida.

45 Jimbo *et al* (*J. Biochem.*, 127, págs. 485-491 (2000)) describen que el *D*-treo-1-fenil-2-benciloxycarbonilamino-3-pirrolidino-1-propanol (PBPP) fue un inhibidor de lo más potente y fue capaz de consumir los glicosfingolípidos sin afectar al crecimiento celular o al nivel de ceramida.

Compendio de la invención

5 En la presente memoria se proporciona una síntesis eficaz, altamente enantioselectiva, de compuestos similares a la amino-ceramida. Esta síntesis de compuestos similares a la amino-ceramida implica sólo cinco etapas a partir de compuestos conocidos. Por ejemplo, el compuesto comparativo similar a la ceramida designado como "Compuesto 5" en la Figura 2 fue producido en un exceso enantiomérico de al menos 99,6% y un rendimiento global de 9% (véanse los Ejemplos 1 y 2). También se describen nuevos compuestos intermedios preparados durante el curso de la síntesis.

La presente invención está dirigida a un método para preparar un compuesto similar a la ceramida representado por la Fórmula Estructural (I):



10

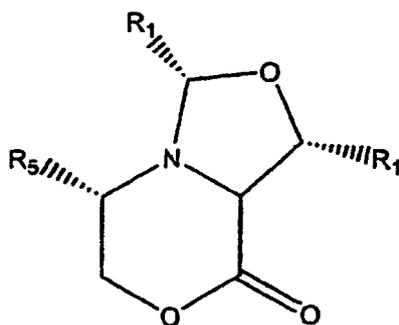
(I).

R₁ es fenilo sustituido en las posiciones *meta/para* con -OCH₂CH₂O-,

R₂ y R₃ son, tomados junto con el átomo de nitrógeno al que están unidos, un anillo heterocíclico no aromático que es pirrolidinilo,

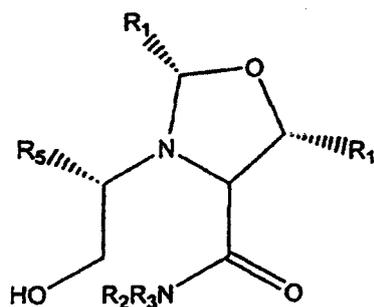
R₇ es un grupo alquilo o alquenilo C7-C10.

15 El método para preparar un compuesto similar a la ceramida representado por la Fórmula Estructural (I) puede comprender una primera etapa por la cual se hace reaccionar pirrolidina con un material de partida cíclico representado por la Fórmula Estructural (II):



(II).

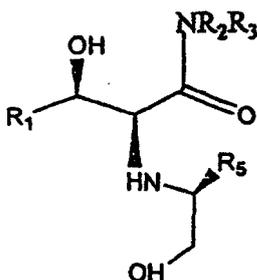
20 La reacción entre la pirrolidina y el material de partida cíclico representado por la Fórmula Estructural (II) forma un compuesto intermedio de amida representado por la Fórmula Estructural (III):



(III).

En las Fórmulas Estructurales (II) y (III), R_1 - R_3 son como se describieron para la Fórmula Estructural (I); y R_5 es un grupo fenilo sustituido o no sustituido.

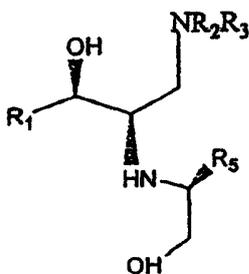
- 5 El método para preparar un compuesto similar a la ceramida representado por la Fórmula Estructural (I) puede comprender una segunda etapa por la cual el grupo aminoacetal en el compuesto intermedio representado por la Fórmula Estructural (III) es hidrolizado para formar el compuesto acíclico representado por la Fórmula Estructural (IV):



(IV).

R_1 , R_2 , R_3 y R_5 en la Fórmula Estructural (IV) son como se definieron en las Fórmulas Estructurales (I)-(III).

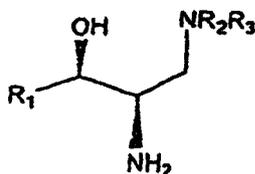
- 10 El método para preparar un compuesto similar a la ceramida representado por la Fórmula Estructural (I) puede comprender una tercera etapa por la cual el compuesto precursor acíclico representado por la Fórmula Estructural (IV) se hace reaccionar con un agente reductor de amidas para formar un compuesto representado por la Fórmula Estructural (V):



(V).

R₁, R₂, R₃ y R₅ en la Fórmula Estructural (V) son como se definieron en las Fórmulas Estructurales (I)-(IV).

5 El método para preparar un compuesto similar a la ceramida representado por la Fórmula Estructural (I) puede comprender una cuarta etapa por la cual el grupo -NHCH(-CH₂OH)R₅ del compuesto de amina representado por la Fórmula Estructural (V) es desbencilado para formar un compuesto similar a la esfingosina representado por la Fórmula Estructural (VI):

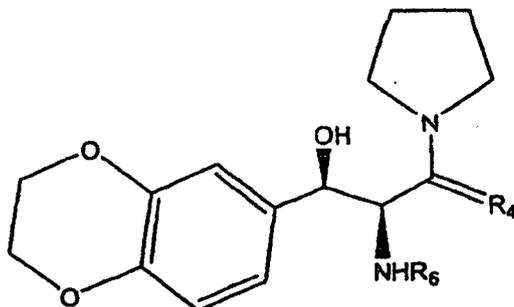


(VI).

Preferiblemente, la desbencilación se consigue por hidrogenación. R₁, R₂ y R₃ son como se describieron para las Fórmulas Estructurales (I)-(V).

10 El método para preparar un compuesto similar a la ceramida representado por la Fórmula Estructural (I) comprende una etapa por la cual el compuesto similar a la esfingosina representado por la Fórmula Estructural (VI) es acilado para formar el compuesto similar a la ceramida representado por la Fórmula Estructural (I).

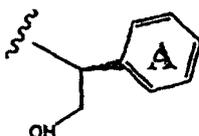
Otras realizaciones de la presente invención son compuestos intermedios en la preparación del compuesto similar a la ceramida representado por la Fórmula Estructural (I) por los métodos descritos en la presente memoria. La presente invención está dirigida a un compuesto intermedio representado por la Fórmula Estructural (VIII):



(VIII).

15 R₄ es -H₂ o =O; y

R₆ se representa por la Fórmula Estructural (IX):



(IX).

20 El anillo de fenilo A en la Fórmula Estructural (IX) es sustituido o no sustituido. Preferiblemente, sin embargo, el anillo de fenilo A es no sustituido. Alternativamente, R₄ en la Fórmula Estructural (VIII) es H₂ y R₆ es -H.

Los métodos de la presente invención se pueden utilizar para preparar compuestos similares a la ceramida que

inhiben la enzima GlcCer sintasa en cinco etapas a partir de materiales de partida conocidos. La síntesis es altamente eficaz, dando como resultado un rendimiento global que es generalmente mayor que 8% y en un exceso enantiomérico que es típicamente mayor que 99%. La síntesis utiliza reactivos baratos y por lo tanto proporciona una vía económica para inhibidores potentes de la GlcCer sintasa.

5 Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es un esquema que muestra la síntesis de compuestos similares a la ceramida representados por la Fórmula Estructural (I) usando los métodos y compuestos intermedios descritos en la presente memoria.

La Figura 2 es un esquema que muestra la síntesis del Compuesto Comparativo (5) similar a la ceramida usando los métodos descritos en la presente memoria.

10 La Figura 3 es un esquema que muestra la síntesis del Compuesto Comparativo (13) similar a la ceramida usando los métodos descritos en la presente memoria.

La Figura 4 muestra las estructuras de los Compuestos (5)-(8).

Descripción detallada de la invención

15 En la presente memoria se describe una síntesis de cinco etapas de compuestos similares a la amino-ceramida a partir de materiales de partida conocidos. En una realización, la síntesis comienza con la preparación del material de partida cíclico representado por la Fórmula Estructural (II). El material de partida cíclico se hace reaccionar con una amina adecuada, abriendo de este modo el anillo de lactona y formando el compuesto intermedio de amida representado por la Fórmula Estructural (III). El aminoacetal en el compuesto intermedio de amida es hidrolizado para formar el compuesto acíclico representado por la Fórmula Estructural (IV). La amida de este compuesto acíclico es reducida con un agente reductor de amidas para formar un compuesto de amina representado por la Fórmula Estructural (V), que es a su vez desbencilado para formar el compuesto similar a la esfingosina representado por la Fórmula Estructural (VI). La amina primaria del compuesto similar a la esfingosina representado por la Fórmula Estructural (VI) puede ser acilado después para formar un compuesto similar a la amino-ceramida. Esta síntesis se muestra esquemáticamente en la Figura 1. Se proporciona a continuación una descripción detallada de cada reacción en la síntesis.

20 El material de partida cíclico representado por la Fórmula Estructural (II) se prepara según métodos descritos en Alker, *et al.*, *Tetrahedron* 54:6089 (1998) y Harwood y Robertson, *Chem. Commun.* 1998:2641 (1998). Específicamente, se hace reaccionar (5S)-5-fenilmorfolin-2-ona con al menos dos equivalentes y preferiblemente de aproximadamente 2,5 a aproximadamente 5,0 equivalentes del arilaldehído R_1CHO bajo condiciones deshidratantes. R_1 es como se definió en la Fórmula Estructural (I). "Condiciones deshidratantes" se refieren a condiciones bajo las que el agua es retirada de la mezcla de reacción. La retirada del agua se puede conseguir, por ejemplo, llevando a cabo la reacción en presencia de un reactivo (un "reactivo deshidratante") que reacciona con el agua (p.ej., tamices moleculares) pero es sustancialmente inerte hacia los otros reactivos presentes en la mezcla de reacción, o la retirada del agua también se puede conseguir por formación de un azeótropo con un disolvente tal como tolueno. Se usa suficiente reactivo deshidratante para retirar los dos equivalentes de agua (en relación al material de partida cíclico) liberada durante la reacción. La concentración de reactivos está típicamente entre aproximadamente 0,01 M y aproximadamente 5,0 M, más típicamente entre aproximadamente 0,1 M y aproximadamente 1,0 M; las temperaturas de reacción adecuadas varían entre aproximadamente 50° C y aproximadamente 150° C, preferiblemente entre aproximadamente 100° C y aproximadamente 120° C.

35 El material de partida cíclico es convertido en el compuesto intermedio de amida representado por la Fórmula Estructural (II) haciendo reaccionar el material de partida cíclico con pirrolidina bajo condiciones adecuadas para amidar un éster con una amina. Tales condiciones son bien conocidas en la técnica, y se describen, por ejemplo, en March, "Advanced Organic Chemistry - Reactions, Mechanisms and Structure", Tercera Edición, John Wiley & Sons, 1985, páginas 375-76, y las referencias citadas en el mismo. Aunque se puede usar un exceso de cada reactivo, el material de partida cíclico es más comúnmente el reactivo limitante. De manera general, se usan hasta aproximadamente quince equivalentes de amina en relación con el material de partida cíclico, típicamente hasta aproximadamente ocho equivalentes. La reacción se puede hacer con los reaccionantes puros, sin embargo, se lleva a cabo más usualmente en un disolvente aprótico, no nucleofílico, a concentraciones de amina tan diluidas como 0,01 M. Las concentraciones de amina están más típicamente, no obstante, entre aproximadamente 0,4 M y aproximadamente 4,0 M. Los disolventes adecuados incluyen disolventes halogenados tales como cloroformo, diclorometano y 1,2-dicloroetano, acetonitrilo, dimetilformamida (DMF), disolventes etéricos tales como éter dietílico, tetrahidrofurano (THF) y 1,4-dioxano y disolventes aromáticos tales como benceno y tolueno. Las temperaturas de reacción adecuadas varían generalmente de aproximadamente 0° C a aproximadamente 100° C, típicamente entre 25° C y aproximadamente 35° C.

55 Las condiciones para hidrolizar aminoacetales son conocidas en la técnica, y se describen, por ejemplo, en March, "Advanced Organic Chemistry - Reactions, Mechanisms and Structure", Tercera Edición, John Wiley & Sons, 1985, páginas 329-32, y las referencias citadas en el mismo. Por ejemplo, el grupo aminoacetal en el compuesto intermedio de amida representado por la Fórmula Estructural (III) puede ser hidrolizado con un ácido mineral acuoso

diluido. Los ácidos adecuados incluyen ácido clorhídrico, ácido sulfúrico o ácido fosfórico, aunque el clorhídrico es la elección más común. También se pueden usar ácidos orgánicos tales como ácido acético y ácidos sulfónicos (p.ej., ácido metanosulfónico, ácido toluenosulfónico y ácido trifluorometilsulfónico). Se usa típicamente al menos un equivalente de ácido en relación al compuesto intermedio, pero se prefiere un exceso de ácido para asegurar la completa hidrólisis, por ejemplo, excesos de al menos diez veces, preferiblemente un exceso de aproximadamente dos a aproximadamente tres veces y más preferiblemente entre aproximadamente 10-50%. La concentración de ácido en la mezcla de reacción está generalmente entre aproximadamente 0,05 M y aproximadamente 1,0 M, típicamente entre aproximadamente 0,1 M y aproximadamente 0,5 M. Se usa a menudo un co-disolvente orgánico miscible con el agua para solubilizar el compuesto intermedio. Los ejemplos incluyen alcoholes tales como metanol o etanol y DMF. Las relaciones de disolvente comunes de disolvente orgánico a agua varían entre aproximadamente 1:1 y aproximadamente 8:1. Las temperaturas de reacción adecuadas varían desde la temperatura ambiente hasta aproximadamente 100° C, preferiblemente entre aproximadamente 60° C y aproximadamente 80° C. De manera alternativa, el aminoacetal puede ser hidrolizado con ácidos de Lewis tales como yoduro de trimetilsililo, gel de sílice húmedo o LiBF₄ en acetonitrilo húmedo, como se describe en March, citado anteriormente.

Un "agente reductor de amidas" es un reactivo que puede reducir una amida a una amina. Tales reactivos se conocen en la técnica, y se describen en, por ejemplo, March, "Advanced Organic Chemistry - Reactions, Mechanisms and Structure", Tercera Edición, John Wiley & Sons, 1985, páginas 1099-1100, Brown y Krishnamurthy, *Aldrichimica Acta* 12:3 (1979) y las referencias citadas en los mismos. Los ejemplos incluyen hidruro de litio y aluminio, trietilborohidruro de litio, reactivos de borano (p.ej., borano•tetrahydrofurano, borano•sulfuro de metilo y disiamilborano, hidruro de aluminio, hidruro de litio y trimetoxialuminio y fluoroborato de trietilo-xonio/borohidruro de sodio. En el método de la presente invención, el hidruro de litio y aluminio es el agente reductor de amidas más comúnmente usado. Aunque se puede usar tan poco como 0,5 equivalentes de hidruro de litio y aluminio en relación al material de partida de amida, es más común usar un exceso, a menudo hasta aproximadamente cinco equivalentes. Preferiblemente, se usan entre aproximadamente 1,5 y aproximadamente 2,5 equivalentes de hidruro de litio y aluminio en relación al material de partida de amida. Se usan típicamente disolventes etéricos para la reducción; los ejemplos incluyen éter dietílico, THF, glima, diglima y 1,4-dioxano. Las concentraciones adecuadas de agente reductor están generalmente entre aproximadamente 0,1 M y aproximadamente 5,0 M, más típicamente entre aproximadamente 0,8 M y aproximadamente 1,5 M. La reducción se lleva a cabo lo más comúnmente a temperatura ambiente, pero también se pueden usar temperaturas entre aproximadamente 0° C y aproximadamente 80° C o 100° C.

Para formar el compuesto similar a esfingosina representado por la Fórmula Estructural (VI), el compuesto de amina representado por la Fórmula Estructural (V) es desbencilado. El término "desbencilar" se usa en la presente memoria para hacer referencia a escindir el enlace carbono-nitrógeno de un grupo -NH-CH₂Z, en donde Z es un grupo arilo, preferiblemente fenilo. Opcionalmente, el grupo metileno puede ser reemplazado con un grupo metino. Con respecto al compuesto similar a la esfingosina representado por la Fórmula Estructural (VI), "desbencilación" se refiere a convertir el grupo -NHCH(-CH₂OH)R₅ en -NH₂. Las condiciones de la desbencilación son bien conocidas en la técnica, y se describen, por ejemplo, en Greene y Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons (1991), páginas 384-86, y las referencias citadas en el mismo.

Preferiblemente, la desbencilación se consigue por hidrogenación en una atmósfera de hidrógeno y en presencia de un catalizador de hidrogenación. Las presiones de hidrógeno adecuadas están generalmente entre aproximadamente la presión atmosférica y aproximadamente 6894 kPa (1000 psi). También se pueden usar otras fuentes de hidrógeno (p.ej., ácido fórmico, formiato de amonio y ciclohexeno). Los catalizadores de hidrogenación adecuados incluyen hidróxido de paladio al 20% sobre carbón (catalizador de Perlman), cloruro de paladio, paladio, óxido de platino y paladio sobre carbón. Por regla general, se usa entre aproximadamente 10% y aproximadamente 100% peso/peso (p/p) en relación al compuesto de amina. En la mayoría de los casos, está presente un ácido orgánico tal como ácido fórmico, ácido acético o ácido trifluoroacético, o un ácido inorgánico tal como ácido clorhídrico o ácido sulfúrico, por ejemplo, entre aproximadamente uno y aproximadamente cinco equivalentes en relación al compuesto de amina, preferiblemente entre aproximadamente 1,6 y aproximadamente 2,4 equivalentes. La reacción se lleva a cabo lo más comúnmente en un disolvente alcohólico tal como metanol o etanol, con agua como co-disolvente (p.ej., entre 0% y aproximadamente 50% volumen/volumen (v/v), preferiblemente entre aproximadamente 5% y aproximadamente 15% v/v). Son adecuadas las temperaturas de reacción entre aproximadamente 0° C y aproximadamente 50° C, preferiblemente entre aproximadamente 25° C y aproximadamente 40° C.

Se conocen en la técnica muchas condiciones de desbencilación además de la hidrogenación, y se incluyen en la presente invención. Los ejemplos incluyen sodio metal y NH₃ (véase, por ejemplo, du Vigneaud y Behrens, *J. Biol. Chem.* 117:27 (1937)), CCl₃CH₂OCOCl, CH₃CN (véase, por ejemplo, Rawal, *et al.*, *J. Org. Chem.*, 52:19 (1987)), Me₃SiCH₂CH₂OCOCl, THF, -50° C, después 25° C durante una noche (véase, por ejemplo, Campbell, *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 28:2331 (1987)), α-cloroformiato de cloroetilo e hidróxido de sodio (véase, por ejemplo, Olofson, *et al.*, *J. Org. Chem.* 49:2081 (1984) y DeShong y Kell, *Tetrahedron Lett.*, 27:3979 (1986)), cloroformiato de vinilo (véase, por ejemplo, Olofson *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, 1977:1567 (1977) y Cooley y Evain, *Synthesis*, 1989:1 (1989)), RuO₄, NH₃, H₂O (véase, por ejemplo, Gao y Jones, *J. Am. Chem. Soc.*, 109:1275 (1987)) y ácido *m*-cloroperoxisbenzoico seguido de FeCl₂, -10° C (véase, por ejemplo, Monkovic, *et al.*, *Synthesis*, 1985:770 (1985)).

El compuesto similar a la esfingosina representado por la Fórmula Estructural (VI) es convertido en un compuesto similar a la ceramida acilando la amina libre. Las acilaciones de grupos amina son bien conocidas en la técnica y se pueden llevar a cabo, por ejemplo, haciendo reaccionar la amina con un agente de acilación $R_7C(O)-X$. R_7 es como se describió anteriormente para la Fórmula Estructural (I), y X es un grupo saliente que es desplazado fácilmente por una amina primaria. Se describen condiciones para esta reacción en, por ejemplo, March, "Advanced Organic Chemistry - Reactions, Mechanisms and Structure", Tercera Edición, John Wiley & Sons, 1985, y las referencias citadas en el mismo. Los ejemplos de agentes de acilación adecuados incluyen haluros de ácido, anhídridos o ésteres. Preferiblemente, la amina es acilada con un cloruro de ácido. De manera general, se usan cantidades equimolares del compuesto similar a la esfingosina y el cloruro de ácido, en presencia de un pequeño exceso, en relación al cloruro de ácido, de una amina terciaria, tal como trietilamina, diisopropilamina, dimetilaminopiridina o piridina. Sin embargo, se puede usar un exceso de cloruro de ácido (típicamente, aproximadamente 10-50%) cuando el compuesto similar a la esfingosina es el limitante, y viceversa. Las concentraciones de los reactivos en la mezcla de reacción varían normalmente entre aproximadamente 0,005 M y aproximadamente 5,0 M, y están preferiblemente entre aproximadamente 0,05 M y aproximadamente 0,5 M. El exceso de amina base puede ser mayor que aproximadamente 100%, pero está típicamente entre aproximadamente 5% y aproximadamente 25%. Se prefieren disolventes apróticos tales como disolventes halogenados (p.ej., cloroformo, cloruro de metileno y 1,2-dicloroetano), sin embargo otros disolventes apróticos tales como disolventes etéricos y disolventes hidrocarbonados pueden ser sustitutos adecuados. Se prefiere normalmente la temperatura ambiente para la reacción, pero también se pueden usar temperaturas entre aproximadamente 0° C y aproximadamente 50° C.

Alternativamente, el agente de acilación es un éster activado $R_7C(O)-OX'$, en donde $-OX'$ es desplazado fácilmente por una amina primaria. Se conocen en la técnica métodos para acilar una amina con ésteres activados, y se describen en, por ejemplo, March, "Advanced Organic Chemistry - Reactions, Mechanisms and Structure", Tercera Edición, John Wiley & Sons, 1985, páginas 371-375, y las referencias citadas en el mismo. Muchos ésteres activados son lo suficientemente estables para ser aislados. Los ésteres de *N*-hidroxisuccinimidilo, algunos de los cuales están disponibles en el mercado en Aldrich Chemical Co., Milwaukee, WI, son un ejemplo de ésteres activados de este tipo. Se pueden usar las condiciones adecuadas para formar una amida con un agente de acilación de cloruro de ácido, descritas en el párrafo anterior, con un éster activado estable. En contraste con los cloruros de ácido, que requieren activación con aminas terciarias, los ésteres activados son lo suficientemente reactivos para que formen amidas directamente en presencia de aminas primarias. Por lo tanto, la amina terciaria puede ser omitida de la reacción de acilación cuando se usan ésteres activados.

Alternativamente, se forma un éster activado *in situ*. La formación de un éster activado *in situ* requiere un "agente de acoplamiento", que es un reactivo que reemplaza el grupo hidroxilo de un ácido carboxílico con un grupo que es susceptible de desplazamiento nucleofílico. Los ejemplos de agentes de acoplamiento incluyen 1,1'-carbonyldiimidazol (CDI), cloroformiato de isobutilo, dimetilaminopropilcarbodiimida (EDC), diciclohexilcarbodiimida (DCC). Cuando se amida por generación *in situ* de un éster activado, se puede usar un exceso del ácido carboxílico o bien de la amina (típicamente un exceso de 50%, más típicamente aproximadamente un exceso de 10-15%). Sin embargo, es más común cuando se lleva a cabo la presente invención usar el compuesto amina como reactivo limitante. De manera general, se usan de aproximadamente 1,0 moles a aproximadamente 10 moles de agente de acoplamiento por mol de ácido carboxílico, preferiblemente de aproximadamente 1,0 moles a aproximadamente 1,5 moles de agente de acoplamiento por mol de ácido carboxílico. La reacción se lleva a cabo generalmente en disolventes apróticos, por ejemplo, disolventes halogenados tales como cloruro de metileno, dicloroetano y cloroformo, disolventes etéricos tales como tetrahidrofurano, 1,4-dioxano y éter dietílico y dimetilformamida. Las temperaturas de reacción adecuadas varían generalmente entre aproximadamente 0° y aproximadamente 100° C, pero la reacción se lleva a cabo preferiblemente a temperatura ambiente.

Se proporcionan ejemplos de condiciones específicas para llevar a cabo las reacciones descritas en la presente memoria en los Ejemplos 1 y 2.

Utilizando el enantiómero del compuesto representado por la Fórmula Estructural (II) como material de partida cíclico, se puede preparar el enantiómero de los compuestos representados por las Fórmulas Estructurales (III)-(VI) y (I) utilizando los métodos descritos en la presente memoria. El enantiómero del material de partida cíclico representado por la Fórmula Estructural (III) se puede preparar haciendo reaccionar (5*R*)-5-fenilmorfolin-2-ona con dos equivalentes del aldehído R_1CHO bajo condiciones deshidratantes, como se describió anteriormente. El enantiómero de los compuestos representados por la Fórmula Estructural (III) y (VIII) y los métodos para preparar los enantiómeros de los compuestos representados por las Fórmulas Estructurales (II)-(IV) y (I) usando los procedimientos descritos en la presente memoria están englobados dentro de la presente invención.

El término "enantiómero", como se emplea en la presente memoria, y las fórmulas estructurales que representan un enantiómero pretenden incluir el enantiómero "puro" libre de su isómero óptico, así como mezclas del enantiómero y su isómero óptico en las que el enantiómero está presente en un exceso enantiomérico, p.ej., al menos 10%, 25%, 50%, 75%, 90%, 95%, 98% o 99% de exceso enantiomérico.

Con respecto a las variables R_1-R_5 en las Fórmulas Estructurales (I)-(IX), un "grupo alifático" es no aromático, consiste únicamente en carbono e hidrógeno y puede contener opcionalmente una o más unidades de insaturación, p.ej., enlaces dobles y/o triples. Un grupo alifático puede ser de cadena lineal, ramificada o cíclica. Cuando es de

cadena lineal o ramificada, un grupo alifático contiene típicamente entre aproximadamente 1 y aproximadamente 30 átomos de carbono, más típicamente entre aproximadamente 1 y aproximadamente 24 átomos de carbono.

5 Cuando es cíclico, un grupo alifático contiene típicamente entre aproximadamente 3 y aproximadamente 10 átomos de carbono, más típicamente entre aproximadamente 3 y aproximadamente 7 átomos de carbono. Los grupos alifáticos son preferiblemente grupos alquilo inferiores, que incluyen hidrocarburos saturados de cadena lineal o ramificada C1-30, preferiblemente hidrocarburos saturados de cadena lineal o ramificada C1-24. Los ejemplos incluyen metilo, etilo, *n*-propilo, *iso*-propilo, *n*-butilo, *sec*-butilo y *terc*-butilo.

10 Los grupos aromáticos incluyen grupos aromáticos carbocíclicos tales como fenilo, 1-naftilo, 2-naftilo, 1-antracilo y 2-antracilo, y grupos aromáticos heterocíclicos tales como *N*-imidazolilo, 2-imidazol, 2-tienilo, 3-tienilo, 2-furanilo, 3-furanilo, 2-piridilo, 3-piridilo, 4-piridilo, 2-pirimidilo, 4-pirimidilo, 2-pirano, 3-pirano, 3-pirazolilo, 4-pirazolilo, 5-pirazolilo, 2-pirazinilo, 2-tiazol, 4-tiazol, 5-tiazol, 2-oxazolilo, 4-oxazolilo y 5-oxazolilo.

15 Los grupos aromáticos también incluyen sistemas de anillos aromáticos policíclicos condensados en los que un anillo aromático carbocíclico o anillo heteroararílico está condensado a uno o más otros anillos heteroararílicos. Los ejemplos incluyen 2-benzotienilo, 3-benzotienilo, 2-benzofuranilo, 3-benzofuranilo, 2-indolilo, 3-indolilo, 2-quinolinilo, 3-quinolinilo, 2-benzotiazol, 2-bencimidazol, 2-quinolinilo, 3-quinolinilo, 1-isoquinolinilo, 3-quinolinilo, 1-isoindolilo y 3-isoindolilo.

20 Los anillos heterocíclicos no aromáticos son anillos carbocíclicos no aromáticos que incluyen uno o más heteroátomos tales como nitrógeno, oxígeno o azufre en el anillo. El anillo puede ser de cinco, seis, siete u ocho miembros. Los ejemplos incluyen morfolinilo, tiomorfolinilo, pirrolidinilo, piperazinilo, piperidinilo, azetidínilo, azacicloheptilo o *N*-fenilpiperazinilo.

25 Los sustituyentes adecuados sobre un grupo alquilo inferior, alifático, aromático, no aromático, heterocíclico o bencílico son aquellos que no interfieren sustancialmente con las reacciones descritas en la presente memoria. "Interferir con una reacción" se refiere a disminuir sustancialmente el rendimiento (p.ej., una disminución mayor que 50%) o causar una cantidad sustancial de formación de subproductos (p.ej., donde los subproductos representan al menos el 50% del rendimiento teórico). Se pueden usar sustituyentes interferentes, a condición de que sean convertidos primero en una forma protegida. Se conocen en la técnica grupos protectores adecuados, y se describen, por ejemplo, en Greene y Wuts, "Protective Groups in Organic Synthesis", John Wiley & Sons (1991).

30 Los sustituyentes adecuados sobre un grupo alquilo inferior, alifático, aromático, no aromático, heterocíclico o bencílico incluyen, por ejemplo, halógeno (-Br, -Cl, -I y -F), -OR, -CN, -NO₂, -NR₂, -COOR, -CONR₂, -SO_kR (k es 0, 1 o 2) y -NH-C(=NH)-NH₂. Cada R es independientemente -H, un grupo alifático, un grupo alifático sustituido, un grupo bencilo, un grupo bencilo sustituido, un grupo aromático o un grupo aromático sustituido, y preferiblemente -H, un grupo alquilo inferior, un grupo bencílico o un grupo fenilo. Un anillo heterocíclico no aromático sustituido, grupo bencílico o grupo aromático también puede tener un grupo alifático o alifático sustituido como sustituyente. Un grupo alquilo alifático sustituido también puede tener un anillo heterocíclico no aromático, bencilo, bencilo sustituido, grupo aromático o aromático sustituido como sustituyente. Un grupo alquilo sustituido, alifático sustituido, heterocíclico no aromático sustituido, aromático sustituido o bencilo sustituido puede tener más que un sustituyente.

35 Cuando R₅ es un grupo fenilo sustituido, los ejemplos de sustituyentes preferidos incluyen halo, (alquilo inferior)O-, -O(fenilo) y alquilo inferior.

40 En las fórmulas estructurales representadas en la presente memoria, el resto de la molécula o compuesto al que un grupo o resto químico está conectado es indicado por el siguiente símbolo:



Por ejemplo, el símbolo correspondiente en la Fórmula Estructural (IX) indica que el grupo representado, que es representado por R₆ en la Fórmula Estructural (VIII), está conectado por medio del carbono bencílico a la amina en la Fórmula Estructural (VIII) por un enlace covalente simple.

45 -NR₂R₃, tomado conjuntamente, es pirrolidinilo. Más preferiblemente, -NR₂R₃, tomado conjuntamente, es pirrolidinilo y R₅ es fenilo en compuestos que comprenden R₂, R₃ y R₅.

50 Los compuestos de esta invención que poseen un grupo suficientemente ácido, suficientemente básico, o ambos grupos funcionales, por consiguiente pueden reaccionar con cualquiera de varias bases inorgánicas, y ácidos inorgánicos y orgánicos, para formar una sal. Por tanto, la presente invención también incluye sales de los compuestos intermedios representados por la Fórmula Estructural (VIII). Se prefieren sales fisiológicamente aceptables. Los ácidos empleados comúnmente para formar sales de adición de ácido son ácidos inorgánicos tales como ácido clorhídrico, ácido bromhídrico, ácido yodhídrico, ácido sulfúrico, ácido fosfórico, y similares, y ácidos orgánicos como ácido p-toluenosulfónico, ácido metanosulfónico, ácido oxálico, ácido p-bromofenil-sulfónico, ácido

carbónico, ácido succínico, ácido cítrico, ácido benzoico y ácido acético. Los ejemplos de tales sales incluyen el sulfato, piro-sulfato, bisulfato, sulfito, bisulfito, fosfato, monohidrogenofosfato, dihidrogenofosfato, metafosfato, pirofosfato, cloruro, bromuro, yoduro, acetato, propionato, decanoato, caprilato, acrilato, formiato, isobutirato, caproato, heptanoato, propiolato, oxalato, malonato, succinato, suberato, sebacato, fumarato, maleato, butino-1,4-dioato, hexino-1,6-dioato, benzoato, clorobenzoato, metilbenzoato, dinitrobenzoato, hidroxibenzoato, metoxibenzoato, ftalato, sulfonato, xilenosulfonato, fenilacetato, fenilpropionato, fenilbutirato, citrato, lactato, gamma-hidroxibutirato, glicolato, tartrato, metanosulfonato, propanosulfonato, naftaleno-1-sulfonato, naftaleno-2-sulfonato y mandelato.

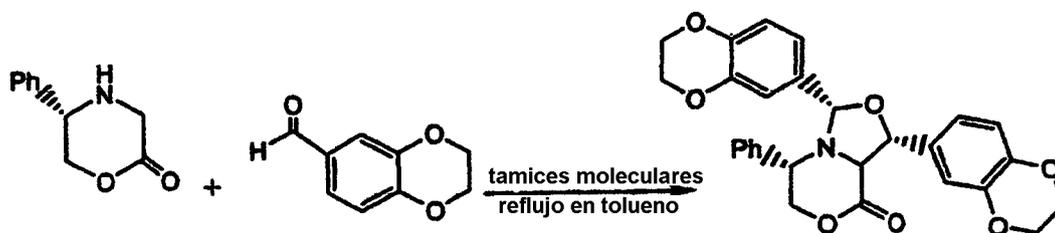
Las sales de adición de base incluye las derivadas de bases inorgánicas, tales como hidróxidos de amonio o de metales alcalinos o alcalinotérreos, carbonatos, bicarbonatos, y similares. Tales bases útiles en la preparación de las sales de esta invención incluyen por tanto hidróxido de sodio, hidróxido de potasio, hidróxido de amonio y carbonato de potasio.

Ejemplos

Ejemplo 1 - Preparación a pequeña escala de compuestos similares a la ceramida

Compuesto Intermedio 1

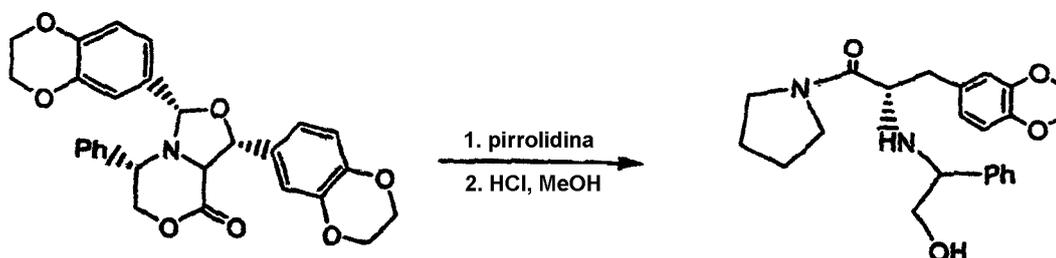
(1R,3S,5S,8aS)-1,3-Bis-(2',3'-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-5-fenil-tetrahidro-oxazolo[4,3-c][1,4]oxazin-8-ona



A una disolución agitada de (5S)-5-fenilmorfolin-2-ona (2,00 g, 11,3 mmol) (preparada como en: Dellaria, J.F.m Santarsiero, B.D. *J. Org. Chem.*, 1989, **54**, 3916) y 1,4-benzodioxan-6-carboxaldehído (5,56 g, 33,9 mmol) en tolueno (125 ml) se añadieron tamices moleculares de 4 Å (aproximadamente 20 ml). La mezcla se calentó a reflujo durante 72 horas, se filtró hasta quedar exenta de tamices y se concentró. La goma ámbar resultante se sometió a cromatografía de desarrollo rápido sobre sílice (éter dietílico/hexano) para proporcionar un sólido amarillo pálido. Este material se purificó adicionalmente por trituración con éter dietílico para dar 1,89 g (34%) de producto como un sólido blanco esponjoso: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7,31-7,17 (m, 5H), 6,95-6,79 (m, 5H), 5,32-5,27 (m, 2H), 4,43-4,28 (m, 2H), 4,24 (s, 4H), 4,18 (m, 4H), 4,16-4,08 (m, 2H) ppm.

Compuesto Intermedio 2

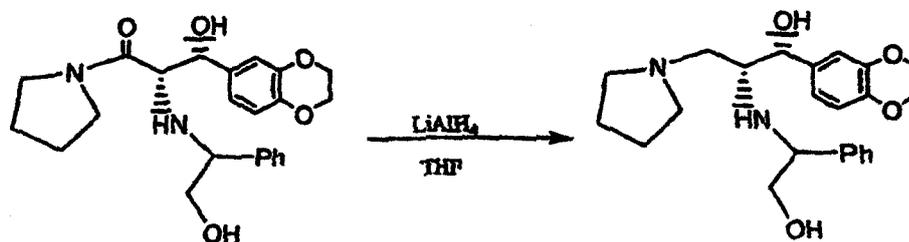
(2S,3R,1''S)-3-(2',3'-Dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-3-hidroxi-2-(2''-hidroxi-1''-fenil-etilamino)-1-pirrolidin-1-il-propan-1-ona



A una disolución agitada del Compuesto Intermedio 1 (1,80 g, 3,69 mmol) en cloroformo (20 ml) se añadió pirrolidina (2,0 ml, 24 mmol). La disolución se agitó durante una noche y después se concentró. La espuma incolora pegajosa resultante se recogió en metanol (16 ml) y ácido clorhídrico 1 N (4 ml). La mezcla se llevó a reflujo durante 1 hora, se trató con ácido clorhídrico 1 N adicional (2 ml) y se llevó a reflujo durante otras 2 horas. La disolución de reacción se concentró y el residuo resultante se repartió entre acetato de etilo y una disolución acuosa de bicarbonato de sodio. La capa orgánica se secó (sulfato de sodio) y se concentró. La goma amarilla pálida resultante se purificó por cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (cloruro de metileno/amoniaco metanólico 2 N) para dar 1,40 g (92%) del Compuesto Intermedio 2 como un sólido espumoso incoloro: $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7,31-7,13 (m, 5H), 6,93-6,70 (m, 3H), 4,47 (d, $J = 8,5$, 1H), 4,18 (s, 4H), 3,82 (t, $J = 5,9$, 1H), 3,74 (d, $J = 6,0$, 2H), 3,06 (d, $J = 8,5$, 1H), 3,06-2,97 (m, 1H), 2,92-2,83 (m, 1H), 1,97-1,87 (m, 1H), 1,45-1,15 (m, 4H) ppm.

Compuesto Intermedio 3

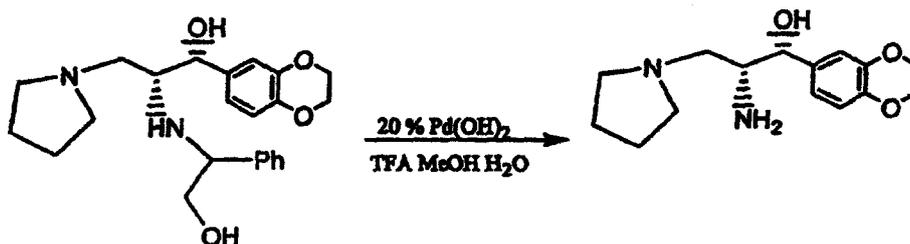
(1*R*,2*R*,1''*S*)-3-(2',3'-Dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-2-(2''-hidroxi-1''-fenil-etilamino)-3-pirrolidin-1-il-propan-1-ol



5 A una disolución agitada del Compuesto Intermedio 2 (1,38 g, 3,35 mmol) en tetrahidrofurano (30 ml) se añadió hidruro de litio y aluminio (0,26 g, 6,9 mmol). La suspensión espumosa se agitó durante una noche y después se inactivó con la adición (gota a gota hasta que la formación de espuma cesa) de hidróxido de sodio acuoso 1 N (13 ml). La mezcla se diluyó con agua y se extrajo con acetato de etilo. La capa orgánica se secó (sulfato de sodio) y se concentró para dar una goma incolora. La cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (cloruro de metileno/amoniaco metanólico 2 N) dio 0,94 g (70%) de producto como una espuma pegajosa incolora: ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,36-7,17 (m, 5H), 6,88-6,74 (m, 3H), 4,42 (d, *J* = 5,4, 1H), 4,26 (s, 4H), 3,79-3,69 (m, 1H), 3,64-3,56 (m, 1H), 3,55-3,45 (m, 1H), 3,0-0-2,90 (m, 1H), 2,67-2,57 (m, 1H), 2,43-2,32 (m, 4H), 2,25-2,15 (m, 1H), 1,75-1,65 (m, 4H) ppm.

Compuesto Intermedio 4

(1*R*,2*R*)-2-Amino-1-(2',3'-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-3-pirrolidin-1-il-propan-1-ol



15 En una bomba de reacción de alta presión equipada con un agitador mecánico se cargó una disolución del Compuesto intermedio 3 (0,91 g, 2,28 mmol) en metanol/agua 10:1 (22 ml), ácido trifluoroacético (0,18 ml, 2,3 mmol) e hidróxido de paladio al 20% sobre carbón (catalizador de Perlman; 0,91 g). El reactor fue evacuado y vuelto a llenar con argón tres veces y después evacuado y relleno con hidrógeno (689,4 kPa, 100 psi). La reacción se agitó durante 2 días y después se evacuó y se inundó con nitrógeno. La disolución de reacción se filtró a través de Celite y se concentró. La goma gris-verde resultante se sometió a cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (cloruro de metileno/amoniaco metanólico 2 N) para dar 0,165 g (26%) de producto como una goma casi incolora: ¹H NMR (CDCl₃) δ 6,89-6,76 (m, 3H), 4,54 (d, *J* = 3,7, 1H), 4,25 (s, 4H), 3,43 (s, 1H), 3,14-3,07 (m, 1H), 2,68-2,41 (m, 6H), 1,82-1,71 (m, 4H) ppm.

25 Compuesto Comparativo 5

[2-(2',3'-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-2-hidroxi-1-pirrolidin-1-ilmetil-etil]-amida del ácido (1*R*,2*R*)-hexadecanoico

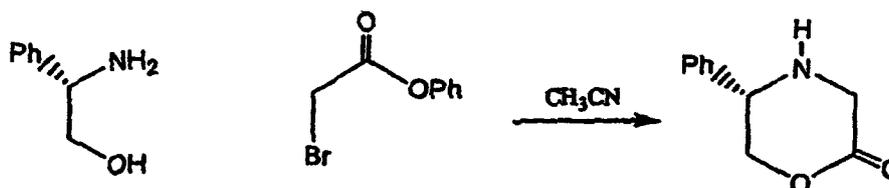


30 A una disolución agitada del Compuesto intermedio 4 (0,165 g, 0,593 mmol) en cloruro de metileno (8 ml) se añadió cloruro de palmitoilo (0,18 g, 0,59 mmol) seguido de *N,N*-diisopropiletilamina (0,11 ml, 0,65 mmol). La disolución se agitó durante 2 horas y después se concentró. El residuo se repartió entre acetato de etilo y una disolución acuosa de bicarbonato de sodio. La capa orgánica se secó (sulfato de sodio) y se concentró. El sólido blanquecino

resultante se sometió a cromatografía de desarrollo rápido sobre gel de sílice (cloruro de metileno/amoniaco metanólico 2 N) para dar 0,174 g (57%) de producto como un sólido blanco. Las comparaciones por espectroscopía ^1H NMR y HPLC analítica quiral (columna: Chirex (S)-VAL y (R)-NE, 4,6 x 250 mm; eluyente: ácido trifluoroacético al 0,5% en hexano/cloruro de metileno/etanol 67:31:2; flujo: 1 ml/min; detección 280 nm) demuestran que este material era idéntico a una muestra del mismo compuesto preparada por el método de Polt, et al., (*J. Org. Chem.*, 1998, 63, 8837). Se determinó que el exceso enantiomérico era 99,6%. Se determinó que la contaminación total de los dos diastereómeros posibles era 0,2%. ^1H NMR (CDCl_3) δ 6,88-6,73 (m, 3H), 5,84 (d, $J = 7,3$, 1H), 4,24 (s, 4H), 4,22-4,15 (m, 1H), 2,86-2,72 (m, 2H), 2,72-2,55 (m, 4H), 2,10 (t, $J = 7,5$, 2H), 1,82-1,74 (m, 4H), 1,58-1,46 (m, 2H), 1,32-1,16 (m, 24H), 0,88 (t, $J = 6,7$, 3H) ppm.

10 Ejemplo 2 - Preparación a gran escala de compuestos similares a la ceramida

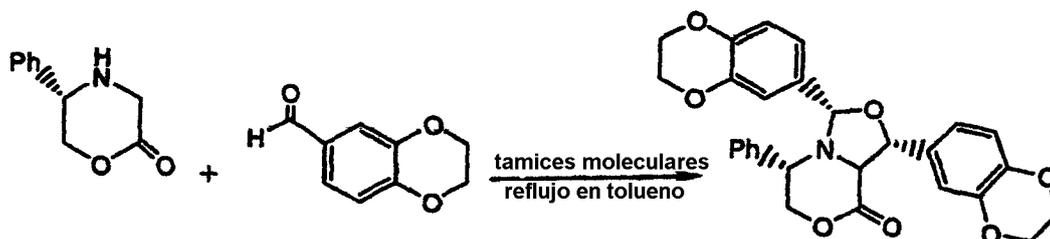
(5S)-5-Fenilmorfolin-2-ona



Se preparó una disolución de S-(+)-fenilglicinol (Aldrich, 10,17 g, 78,12 mmol) y diisopropiletilamina (Aldrich, 34 ml, 195 mmol, 2,5 equivalentes) en CH_3CN (200 ml). Esta disolución se añadió a α -bromoacetato de fenilo (18,48 g, 85,9 mmol, 1,1 equivalentes) disuelto en CH_3CN (50 ml) en atmósfera de nitrógeno gota a gota a lo largo de 2 horas. La disolución resultante se agitó en atmósfera de nitrógeno durante 16-20 horas. El disolvente se retiró por rotoevaporación manteniendo la temperatura del baño por debajo de 25°C . Al aceite se le añadió acetato de etilo (120 ml) y la mezcla se agitó durante 15 minutos. El precipitado blanco resultante se separó por filtración y el sólido se lavó con acetato de etilo (25 ml). El filtrado se sometió a rotoevaporación hasta un aceite manteniendo la temperatura del baño por debajo de 25°C . Después de secar a vacío durante 0,5 horas, se disolvió el aceite en CH_2Cl_2 (17 ml) y se cargó sobre una columna de gel de sílice (60 g de relleno con 10% de acetato de etilo/hexanos). Las manchas del subproducto superior se eluyeron con 10% de acetato de etilo/hexanos y el producto se eluyó con 50% de acetato de etilo/hexanos - 100% de acetato de etilo. Las fracciones que contenían el producto se sometieron a rotoevaporación hasta un aceite manteniendo la temperatura del baño por debajo de 25°C . Este aceite se disolvió en acetato de etilo (12 ml) y se añadieron hexanos (60 ml) lentamente en un baño de hielo para precipitar el producto. el precipitado resultante se filtró. El sólido blanco a amarillo se secó a vacío. La (5S)-5-fenilmorfolin-2-ona obtenida (7,4 g, 41,8 mmol, 53%) se usó directamente en la siguiente etapa.

Compuesto Intermedio 1

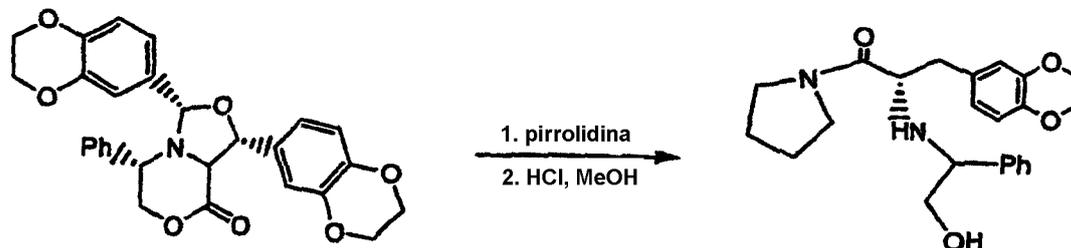
(1R,3S,5S,8aS)-1,3-Bis-(2',3'-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-5-fenil-tetrahidro-oxazolo[4,3-c][1,4]oxazin-8-ona



Se disolvieron (5S)-5-fenilmorfolin-2-ona (7,4 g, 41,8 mmol) y benzodioxolano-6-carboxaldehído (Aldrich o Alfa Aesar, 20,56 g, 125,2 mmol, 3,0 equivalentes) en tolueno (180 ml). La disolución se puso en un aparato extractor soxhlet lleno con tamices moleculares de 4 Å (aprox. 30 g). La disolución se llevó a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 2-3 días. Después de enfriar hasta la temperatura ambiente, se retiró el disolvente por rotoevaporación y el aceite se disolvió en acetato de etilo (200 ml). Se añadió una disolución de bisulfito de sodio (Aldrich, 50 g) en agua (100 ml) y la mezcla de dos fases se agitó a temperatura ambiente durante 1 hora. El sólido blanco resultante se separó por filtración y se lavó con acetato de etilo. El filtrado se puso en un embudo separador y se separaron las capas. La capa orgánica se lavó con agua (100 ml) y una disolución saturada de cloruro de sodio (100 ml). La disolución seca (Na_2SO_4) se filtró y se sometió a rotoevaporación hasta un aceite espumoso amarillo-rojo (23,11 g). Después de secar a vacío durante 1 hora, se añadió éter dietílico (350 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 16-20 horas. El sólido blanco-amarillo resultante se filtró. El sólido se secó a vacío. El cicloaducto se obtuvo en 46% de rendimiento (9,34 g).

Compuesto Intermedio 2

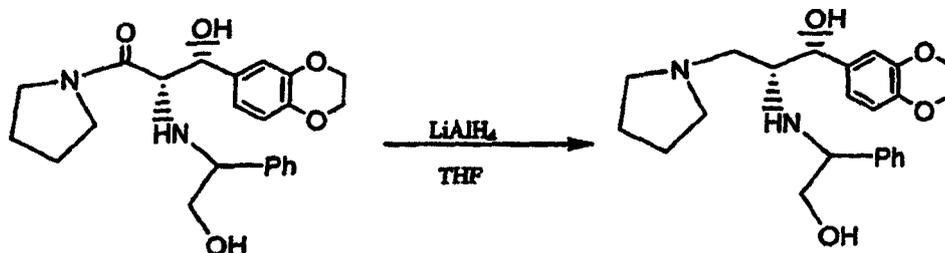
(2S,3R,1''S)-3-(2',3'-Dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-3-hidroxi-2-(2''-hidroxi-1''-fenil-etilamino)-1-pirrolidin-1-il-propan-1-ona



- 5 Al cicloaducto (Compuesto intermedio 1, 6,7 g, 13,74 mmol) disuelto en cloruro de metileno (40 ml) se le añadió pirrolidina (Aldrich, 4,7 ml, 68,7 mmol, 5 equivalentes). La disolución se agitó en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante 16-18 horas. El disolvente se retiró por rotoevaporación para dar un aceite espumoso amarillo que se secó a vacío durante 0,5 horas. El producto bruto se disolvió en metanol (115 ml) y se añadió una disolución acuosa de HCl 1 M (115 ml). La disolución se llevó a reflujo durante 4 horas. Después de enfriar hasta la temperatura ambiente, el metanol se retiró por rotoevaporación. Se añadió acetato de etilo (60 ml) y el sistema de dos fases se agitó a temperatura ambiente durante 5-15 minutos. Se separaron las dos capas y la capa orgánica se extrajo con HCl 1 M (30 ml). Las capas acuosas combinadas se lavaron dos veces con acetato de etilo (60, 30 ml). Se añadió una disolución saturada de bicarbonato de sodio (150 ml) a la capa acuosa lentamente. El producto se extrajo tres veces con acetato de etilo (60 ml) de la capa acuosa básica (pH = 8-9). Las capas orgánicas combinadas que contenían el producto se lavaron con una disolución saturada de cloruro de sodio (30 ml). Después de secar con Na₂SO₄ se filtró la disolución y se sometió a rotoevaporación para dar un sólido amarillo. El compuesto intermedio 2 se obtuvo en 93% de rendimiento (5,26 g).

Compuesto Intermedio 3

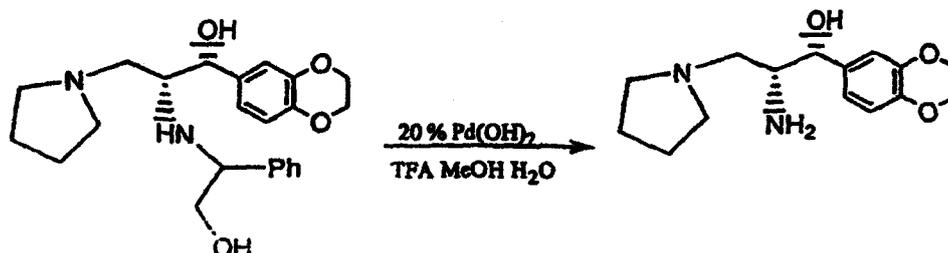
(1R,2R,1''S)-3-(2',3'-Dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-2-(2''-hidroxi-1''-fenil-etilamino)-3-pirrolidin-1-il-propan-1-ol



- 20 A un matraz de 3 cuellos equipado con un embudo de goteo y condensador se añadió LiAlH₄ (Aldrich, 1,2 g, 31,7 mmol, 2,5 equivalentes) y THF anhidro (20 ml) en atmósfera de nitrógeno. Se añadió gota a gota una disolución del Compuesto intermedio 2 (5,23 g, 12,68 mmol) en THF anhidro (75 ml) a la reacción a lo largo de 15-30 minutos. La reacción se llevó a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 9 horas. La reacción se enfrió en un baño de hielo y se añadió cuidadosamente gota a gota una disolución de NaOH 1 M. Después de agitar a temperatura ambiente durante 15 minutos, se añadió agua (50 ml) y acetato de etilo (75 ml). Se separaron las capas y la capa acuosa se extrajo dos veces con acetato de etilo (75 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron con una disolución saturada de cloruro de sodio (25 ml). Después de secar con Na₂SO₄ se filtró la disolución y se sometió a rotoevaporación para dar un aceite espumoso de incoloro a amarillo. El Compuesto intermedio 3 se obtuvo en 99% de rendimiento (5,3 g).

Compuesto Intermedio 4

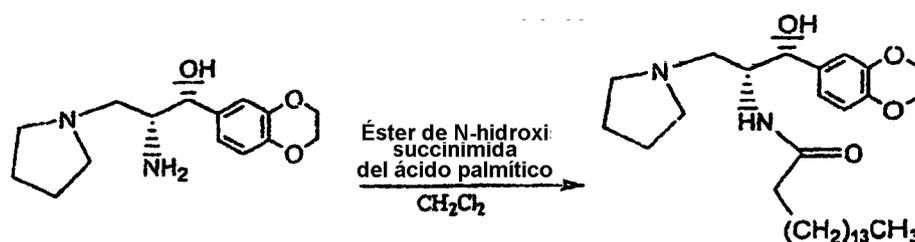
(1R,2R)-2-Amino-1-(2',3'-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-3-pirrolidin-1-il-propan-1-ol



Se disolvió el Compuesto Intermedio **3** (5,3 g, 13,3 mmol) en metanol (60 ml). Se añadieron agua (6 ml) y ácido trifluoroacético (2,05 ml, 26,6 mmol, 2 equivalentes). Después de ser puesto en atmósfera de nitrógeno, se añadió hidróxido de paladio al 20% sobre carbón (catalizador de Pearlman, Lancaster o Aldrich, 5,3 g). La mezcla se puso en un aparato reactor de presión Parr con inserto de vidrio. El aparato se puso en atmósfera de nitrógeno y después bajo presión de hidrógeno de 758,3-827,3 kPa (110-120 psi). La mezcla se agitó durante 2-3 días a temperatura ambiente bajo presión de hidrógeno de 689,4-827,3 kPa (100-120 psi). La reacción se puso en atmósfera de nitrógeno y se filtró a través de una almohadilla de celite. La almohadilla de celite se lavó con metanol (100 ml) y agua (100 ml). El metanol se retiró por rotoevaporación. La capa acuosa se lavó con acetato de etilo tres veces (100, 50, 50 ml). Se añadió una disolución de NaOH 10 M (10 ml) a la capa acuosa (pH = 12-14). El producto se extrajo de la capa acuosa tres veces con cloruro de metileno (100, 100, 50 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron con Na₂SO₄, se filtraron y se sometieron a rotoevaporación hasta un aceite incoloro. El aceite espumoso se secó a vacío durante 2 h. El Compuesto intermedio **4** se obtuvo en 90% de rendimiento (3,34 g).

Compuesto Comparativo 5

[2-(2',3'-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-2-hidroxi-1-pirrolidin-1-ilmetil-etil]-amida del ácido (1R,2R)-hexadecanoico



A una disolución del Compuesto Intermedio **4** (3,34 g, 12,0 mmol) en cloruro de metileno (50 ml) se añadió una disolución de éster de N-hidroxisuccinimida del ácido palmítico (Sigma, 4,24 g, 12,0 mmol) a lo largo de 15-30 minutos en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. La disolución se agitó a temperatura ambiente durante 18-20 horas. A la reacción se añadió cloruro de metileno (50 ml) y una disolución de NaOH 1 M (25 ml). El sistema de dos fases se agitó a temperatura ambiente durante 15-30 min. Se añadió agua (25 ml) y se separaron las capas. La capa acuosa se volvió a extraer con cloruro de metileno (25 ml). Las capas orgánicas combinadas se lavaron dos veces con agua (25 ml) y una vez con una disolución saturada de cloruro de sodio (25 ml). La capa orgánica se secó con Na₂SO₄, se filtró y se sometió a rotoevaporación hasta un aceite amarillo claro. El producto bruto se recrystalizó a partir de hexano (50 ml). El sólido blanco (5,46 g) obtenido se separó sobre gel de sílice (300 g) con 2% de metanol:cloruro de metileno - 4% de metanol:cloruro de metileno - 4% de amoníaco 2 M en metanol:cloruro de metileno. El sólido blanco obtenido se recrystalizó a partir de hexanos (70 ml). Se obtuvo el Compuesto **5** en 66% de rendimiento (4,18 g). La HPLC analítica quiral (columna: Chirex (S)-VAL y (R)-NE, 4,6 x 250 mm; eluyente: ácido trifluoroacético al 0,5% en hexano/cloruro de metileno/etanol 97:31:2; flujo: 1 ml/min; detección: 280 nm) mostró que este material era 98,98% puro, con 0,89% de un diastereoisómero y 0,14% del enantiómero.

Ejemplo 3 - Preparación a gran escala alternativa de compuestos similares a la ceramida

(5S)-5-fenilmorfolin-2-ona, sal de HCl

Una disolución de bromoacetato de fenilo (Aldrich, 862,17 g, 4,0 moles, 1,1 equivalentes) en acetonitrilo (grado de reactivo, 1500 ml) se enfrió en un baño de hielo (temperatura interna por debajo de 5° C). A esto se añadió una suspensión fría (temperatura interna por debajo de 5° C) de S-(+)-2-fenilglicinol (Aldrich, 500 g, 3,65 moles, 1 equivalente) y diisopropiletilamina (DIPEA) (Aldrich, 1587 ml, 9,11 moles, 2,5 equivalentes) en acetonitrilo (2900 ml) en porciones a la vez que se mantiene la temperatura interna por debajo de 10 °C. La mezcla se agitó a esta temperatura durante 30 minutos antes de que el baño de hielo se retirara, y se dejó en agitación la mezcla a temperatura ambiente durante 4 horas adicionales. El disolvente se retiró a vacío a la vez que se mantenía la temperatura del baño a 25° C. La mezcla fue coevaporada con acetato de etilo (2 x 500 ml) para producir un aceite viscoso amarillo claro. A la mezcla de reacción, se añadió acetato de etilo (4500 ml) y el matraz se sumergió en un baño de hielo con agitación. La mezcla se dejó enfriar por debajo de 8° C. Se filtró el sólido y se lavó con acetato de etilo (3 x 250 ml). La disolución se enfrió por debajo de 5° C. Se hizo pasar lentamente HCl gas seco por la disolución a la vez que se mantenía la temperatura interna por debajo de 15° C hasta que el pH estuvo por debajo de 2 (papel pH húmedo). Se dejó en agitación la mezcla a esta temperatura y pH durante 20 minutos adicionales antes de filtrar por succión el sólido. El sólido se lavó con acetato de etilo (3 x 200 ml) y se secó a alto vacío durante aproximadamente 20 horas. El rendimiento fue 412 g (53%). La ¹H NMR fue consistente con la (5S)-5-fenilmorfolin-2-ona, sal de HCl.

Compuesto Intermedio 1

(1R,3S,5S,8aS)-1,3-Bis-(2',3'-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-5-fenil-tetrahidro-oxazolo[4,3-c][1,4]oxazin-8-ona

A una suspensión agitada de (5S)-5-fenilmorfolin-2-ona, sal de HCl (381 g, 1 equivalente) en acetato de etilo al 15% en tolueno (2270 ml) se añadió una disolución de bicarbonato de sodio (1,1 equivalentes) en agua (2000 ml). La disolución bifásica resultante se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 1 hora. La capa orgánica se transfirió a un matraz que contenía 1,4-benzodioxan-6-carboxaldehído. Después se equipó el matraz con una unidad Dean-Stark, un condensador y una entrada de nitrógeno. La mezcla se calentó a reflujo con agitación mientras se recogían aproximadamente 650 ml de disolvente (mezcla de acetato de etilo y tolueno) por medio de la unidad Dean-Stark. La disolución amarilla-roja resultante se dejó en reflujo durante aproximadamente 64 horas, en atmósfera de nitrógeno mientras el agua formada durante la reacción se recogía en la unidad Dean-Stark. Después la mayor parte del disolvente se retiró por medio de destilación a presión atmosférica mediante la unidad Dean-Stark. Después el disolvente residual se retiró por co-evaporación con heptano (500 ml) y éter terc-butilmetílico (2 x 725 ml) para producir un producto semisólido amarillo. El producto semisólido se disolvió en acetato de etilo (3400 ml). Se añadió una disolución de bisulfito de sodio (920 g) en agua (1500 ml) y se dejó en agitación la mezcla a temperatura ambiente durante aproximadamente 1 hora. El sólido que se formó se retiró por filtración y se lavó con acetato de etilo (3 x 400 ml). El filtrado se lavó con agua (1450 ml), una disolución de salmuera al 5% (1450 ml), y se secó sobre MgSO₄ (100 g). El disolvente se retiró a vacío para dar un sólido amarillo. A este se añadió éter terc-butilmetílico (2900 ml) y la suspensión se agitó a temperatura ambiente durante 20 a 22 horas. El sólido amarillo se filtró por succión, se lavó con éter terc-butilmetílico (2 x 600 ml) y se secó a alto vacío a temperatura ambiente durante aproximadamente 22 horas. El rendimiento fue 400,5 g (58%). La ¹HNR y la TLC fueron consistentes con el Compuesto Intermedio 1.

Compuesto Intermedio 2

(2S,3R,1''S)-3-(2',3'-Dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-3-hidroxi-2-(2''-hidroxi-1''-fenil-etilamino)-1-pirrolidin-1-il-propan-1-ona

Se calentó a reflujo una disolución del Compuesto intermedio 1 (312 g, 0,64 moles), pirrolidina (267 ml, 3,2 moles, 5 equivalentes) y tetrahidrofurano (1350 ml) durante 4,5 horas en atmósfera de nitrógeno. El disolvente y el exceso de pirrolidina se retiraron a vacío para producir el compuesto intermedio bruto como un aceite viscoso naranja. El aceite se disolvió en metanol (3000 ml) y una disolución de ácido clorhídrico 1 M (3000 ml). La disolución resultante se calentó a reflujo durante aproximadamente 7 horas. Después el disolvente se retiró a vacío para dar una mezcla de un aceite y agua. A esto se añadió acetato de etilo (2000 ml) y se separó la capa acuosa. La capa orgánica se extrajo con HCl 1 M acuoso (1000 ml). Las capas acuosas se combinaron y se lavaron con acetato de etilo (2000 ml). La capa acuosa se enfrió en un baño de hielo. El pH de la capa acuosa se ajustó a aproximadamente 9 (papel pH) con NaOH acuoso 10 M (525 ml). La capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (3000 ml). La capa orgánica se lavó con una disolución de salmuera al 5% (1000 ml) y se secó (Na₂SO₄). El disolvente se retiró a vacío para producir un aceite viscoso amarillo. El rendimiento fue 213,4 g, 81%. La ¹H NMR fue consistente con el Compuesto Intermedio 2.

Compuesto Intermedio 3

(1R,2R,1''S)-3-(2',3'-Dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-2-(2''-hidroxi-1''-fenil-etilamino)-3-pirrolidin-1-il-propan-1-ol

A una suspensión de LiAlH₄ (50,7 g, 1,34 moles, 2,6 equivalentes) en tetrahidrofurano (700 ml) se añadió una disolución del Compuesto Intermedio 2 (213,34 g, 0,517 moles) en tetrahidrofurano (2000 ml) lentamente con agitación a temperatura ambiente. La mezcla se llevó a reflujo durante aproximadamente 4 horas. El análisis por TLC (10% de metanol en cloruro de metileno, v/v) indicó el consumo del material de partida. La mezcla de reacción se enfrió en un baño de hielo (por debajo de 5° C) y se añadió agua (135 ml) muy lentamente mientras se mantenía la temperatura interna menor que o igual a 10° C. Después se añadió a esto una disolución acuosa de NaOH al 15% (70 ml) seguido de agua (200 ml). La mezcla de reacción se dejó calentar hasta la temperatura ambiente mientras se continuaba la agitación. Después se añadió a la mezcla cloruro de metileno (1000 ml) y las sales se filtraron a través de una almohadilla de celite. Las sales se lavaron con cloruro de metileno (2 x 500 ml). Se combinaron los filtrados y se retiró el disolvente a vacío para producir un aceite amarillo. El aceite se disolvió en HCl acuoso 1 M (1500 ml) y se lavó con acetato de etilo (3 x 500 ml). La capa acuosa se enfrió en un baño de hielo por debajo de 5° C y el pH de la capa acuosa se ajustó de 12 a 13 con una disolución acuosa de NaOH 10 M (220 ml) manteniendo la temperatura interna menor o igual que 10° C. La mezcla se dejó calentar hasta la temperatura ambiente. La capa acuosa se extrajo con cloruro de metileno (2 x 500 ml). Las capas orgánicas se combinaron y lavaron con una disolución de salmuera (500 ml), se secaron (Na₂SO₄) y el disolvente se retiró a vacío para dar un aceite viscoso amarillo. El rendimiento fue 186,4 g (88,5%). La ¹H NMR fue consistente con el Compuesto Intermedio 3.

Compuesto Intermedio 4, sal de dioxalato

(1R,2R)-2-Amino-1-(2',3'-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-3-pirrolidin-1-il-propan-1-ol, sal de dioxalato

Una suspensión del Compuesto Intermedio 3 (358 g, 0,90 moles), etanol (1500 ml), disolución de HCl 1 M (1500 ml) y Pd(OH)₂ al 10% (32 g, 20% en peso) se hidrogenó a aproximadamente 344,7 kPa (50 psi) durante aproximadamente 36 h a temperatura ambiente. La mezcla se filtró a través de un filtro Cuono. El filtro Cuono se lavó con etanol al 10% en agua (500 ml). Se combinaron los filtrados y el etanol se retiró a vacío. La capa acuosa se

extrajo con acetato de etilo (3 x 600 ml). La capa orgánica se extrajo con HCl acuoso 1 M (700 ml). Las capas acuosas se combinaron y se enfriaron en un baño de hielo (0 a aproximadamente 5° C). El pH de la capa acuosa se ajustó a aproximadamente 12 (papel pH) con una disolución acuosa de NaOH 10 M (490 ml) manteniendo la temperatura interna por debajo de 10° C. La capa acuosa se dejó calentar hasta la temperatura ambiente. La capa acuosa se extrajo con cloruro de metileno (2 x 1500 ml, 1 x 750 ml). Las capas orgánicas combinadas se secaron sobre MgSO₄ y el disolvente se retiró a vacío para dar un aceite viscoso amarillo. El peso bruto fue 214,3 g (86%). La ¹H NMR fue consistente con el Compuesto Intermedio 4.

Se añadió lentamente una disolución de ácido oxálico (152,4 g, 1,689 moles, 2,2 equivalentes) en metilisobutilcetona (2300 ml) con agitación a una disolución del Compuesto Intermedio 4 (214,3 g, 0,77 moles, 1 equivalente) en metilisobutilcetona (800 ml) a temperatura ambiente. La mezcla resultante se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 2,5 horas. El sólido se filtró y se trituró con acetona (2000 ml) a temperatura ambiente durante aproximadamente 16 horas. El sólido se filtró, se lavó con acetona (3 x 100 ml) y se secó a alto vacío para producir un sólido blanquecino. El rendimiento fue 312,5 g (89%). La ¹H NMR fue consistente con el Compuesto Intermedio 4, sal de dioxalato.

Compuesto Comparativo 5

[2-(2',3'-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-2-hidroxi-1-pirrolidin-1-ilmetil-etil]-amida del ácido (1R,2R)-hexadecanoico

A una disolución fría (aproximadamente 5° C) del Compuesto Intermedio 4, sal de dioxalato (507 g, 1,11 moles) en agua (10 l) se añadió una disolución acuosa de NaOH 10 M (500 ml) con agitación mientras se mantenía la temperatura interna por debajo de 10° C. Se dejó calentar la disolución hasta la temperatura ambiente mientras el pH de la disolución era mantenido a aproximadamente 14 (papel pH). La capa acuosa se extrajo con cloruro de metileno (3 x 6000 ml). Las capas orgánicas se combinaron, se lavaron con agua (2000 ml), se secaron (MgSO₄) y el disolvente se retiró a vacío para dar un aceite viscoso amarillo, el Compuesto Intermedio 4. El rendimiento fue 302 g (98%). La ¹H NMR fue consistente con el Compuesto Intermedio 4.

Una disolución de éster de NHS de ácido palmítico (Sigma, 382,5 g, 1,01 equivalentes) en cloruro de metileno (2500 ml) se añadió a una disolución del Compuesto Intermedio 4 (302 g) en cloruro de metileno (1500 ml) a temperatura ambiente a lo largo de un periodo de 1,25 horas en una atmósfera de nitrógeno. La mezcla se dejó en agitación a temperatura ambiente durante aproximadamente 18 horas. Se añadió una disolución de NaOH acuoso 1 M (2425 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante aproximadamente 3 horas. Se separó la capa orgánica y la capa acuosa se extrajo con cloruro de metileno (800 ml). Se combinaron las capas orgánicas, se lavaron con una disolución de NaOH 1 M (3 x 1500 ml) y agua (1500 ml). La capa orgánica se secó sobre MgSO₄ y el disolvente se retiró a vacío para dar un semisólido. El semisólido fue coevaporado con heptano (3 x 100 ml). El producto bruto se transfirió a un matraz RB de tres cuellos de 12 l y se añadió heptano (7500 ml). La mezcla se calentó a reflujo con agitación en una atmósfera de nitrógeno. La disolución se enfrió lentamente hasta aproximadamente 55° C (temperatura interna) y se vertió en otro matraz. La disolución se agitó a temperatura ambiente durante 24 horas en una atmósfera de nitrógeno. El sólido blanquecino se filtró, se lavó con heptano (2 x 500 ml) y se secó a alto vacío durante 24 horas. El sólido (397 g) se transfirió a un matraz RB de 12 l y se añadió acetato de etilo al 30% en heptano (8000 ml). La mezcla resultante se calentó a reflujo durante 30 minutos con agitación. La disolución se enfrió hasta aproximadamente 55° C (temperatura interna) y se vertió en otro matraz. La agitación se continuó a temperatura ambiente en una atmósfera de nitrógeno durante aproximadamente 24 horas. El sólido blanquecino se filtró, se lavó con heptano (2 x 100 ml) y se secó a alto vacío para dar un sólido blanquecino. El rendimiento fue 324 g (58%). La ¹H NMR y la TLC fueron consistentes con el Compuesto Intermedio 5. P.f. 96,1° C; análisis HPLC: pureza quiral 99,7%, pureza química 99,7%. Anál. Calc. para C₃₁H₅₂N₂O₄: C, 72,05; H, 10,14; N, 5,42. Encontrado: C, 72,03; H, 10,19; N, 5,42.

Ejemplo 4 - Preparación de los Compuestos 6-8

Se prepararon ésteres de *N*-hidroxisuccinimida de ácidos grasos por el método de Lapidot, Y., Rappoport, S. y Wolman, Y., *Journal of Lipid Research* 8, 1967, o como se describe a continuación:

Éster de *N*-hidroxisuccinimida del ácido octanoico

Se disolvieron *N*-hidroxisuccinimida (Aldrich, 20,0 g, 173 mmol) y trietilamina (26 ml, 208 mmol) en cloruro de metileno en un baño de hielo en atmósfera de nitrógeno. Se añadió gota a gota cloruro de octanoilo (Aldrich, 35 ml, 205 mmol) a lo largo de 0,5 horas. Se retiró el baño de hielo y la disolución, con un sólido blanco, se agitó durante 1 hora a temperatura ambiente. El sólido blanco se retiró por filtración y el filtrado se lavó con agua (100 ml) y una disolución acuosa saturada de bicarbonato de sodio (100 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio, se filtró y se añadió heptano (100 ml). La disolución se sometió a rotoevaporación para retirar la mayor parte del cloruro de metileno y dejar un precipitado coposo de incoloro a blanco en heptano. El precipitado se filtró y se lavó con heptano. Después de secar, se obtuvo el éster de *N*-hidroxisuccinimida del ácido octanoico en 84% de rendimiento (35,4 g): ¹H NMR (CDCl₃) 2,84 (s a, 4H), 2,60 (t, *J* = 7,48 Hz, 2H), 1,78-1,71 (m, 2H), 1,42-1,26 (m, 8H), 0,88 (t, *J* = 6,7 Hz, 3H) ppm.

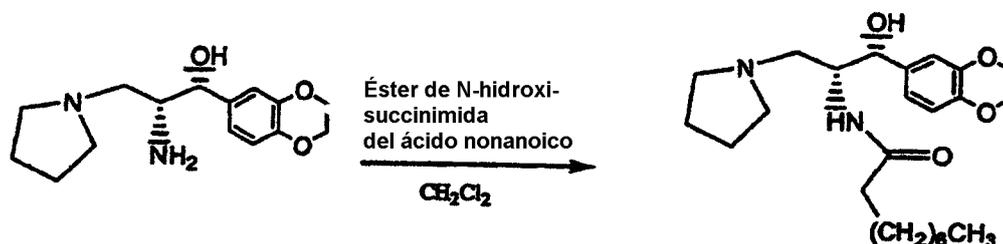
Compuesto 6

[2-(2',3'-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-2-hidroxi-1-pirrolidin-1-ilmetil-etil]-amida del ácido (1R,2R)-octanoico

Compuesto 6

Al Compuesto Intermedio 4 (22,36 g, 80,33 mmol) disuelto en cloruro de metileno anhidro (300 ml) se añadió una disolución de éster de N-hidroxisuccinimida del ácido octanoico (19,4 g, 80,39 mmol) disuelto en cloruro de metileno anhidro (150 ml) a lo largo de 15-30 minutos en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. La disolución se agitó a temperatura ambiente durante 18-20 horas. A la reacción se añadió una disolución acuosa de NaOH 1 M (200 ml). El sistema de dos fases se agitó a temperatura ambiente durante 45 minutos. Se separaron las capas y las capas orgánicas combinadas se lavaron dos veces con NaOH 1 M (2 x 200 ml) y dos veces con agua (2 x 100 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio, se filtró y se sometió a rotoevaporación hasta un aceite amarillo. La mayor parte del material bruto se disolvió en acetato de etilo al 5% en heptano (1 l) a reflujo. Después de enfriar hasta 40° C, la disolución turbia se separó del aceite amarillo decantando la disolución en un nuevo matraz. El primer matraz se enjuagó dos veces con acetato de etilo al 5% en heptano (2 x 250 ml) por el mismo procedimiento (reflujo y enfriamiento hasta 40° C y decantación de la disolución del aceite). La disolución combinada se calentó a reflujo y se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente a lo largo de 4 horas. El sólido blanco resultante se filtró y se lavó con acetato de etilo al 5% en heptano (100 ml) y heptano (100 ml). El sólido blanco (13,9 g) se secó a vacío durante 16-24 horas. Este sólido se disolvió en su mayor parte en acetato de etilo al 5% en heptano (800 ml) a reflujo. Después de enfriar hasta 50° C, la disolución turbia se separó del aceite amarillo decantando la disolución en un nuevo matraz. El primer matraz se enjuagó con acetato de etilo al 5% en heptano (100 ml) por el mismo procedimiento (reflujo y enfriamiento hasta 50° C y decantación de la disolución del aceite). La disolución combinada se calentó a reflujo y se dejó enfriar hasta la temperatura ambiente a lo largo de 4 horas. El sólido blanco resultante se filtró y se lavó con acetato de etilo al 5%/heptano (50 ml) y heptano (50 ml). Después de secar a temperatura ambiente a vacío durante 2-3 días, se obtuvo el Compuesto 6 en 39% de rendimiento (12,57 g). La HPLC analítica quiral (columna: Chirex (S)-VAL y (R)-NE, 4,6 x 250 mm) mostró que este material era 99,9% el isómero R,R deseado. La HPLC analítica mostró que este material era 99,6% puro. P.f. 87-88° C. ¹H NMR (CDCl₃) δ 6,86-6,73 (m, 3H), 5,84 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 4,91 (d, J = 3,4 Hz, 1H), 4,25 (s, 4H), 4,24-4,18 (m, 1H), 2,85-2,75 (m, 2H), 2,69-2,62 (m, 4H), 2,10 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 1,55-1,45 (m, 2H), 1,70-1,85 (m, 4H), 1,30-1,15 (m, 8H), 0,87 (t, J = 6,9 Hz, 3H) ppm.

Compuesto 7

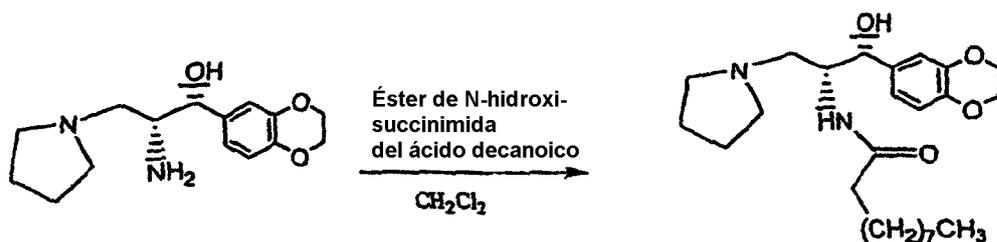
[2-(2',3'-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-2-hidroxi-1-pirrolidin-1-ilmetil-etil]-amida del ácido (1R,2R)-nonanoico

Compuesto 7

Este compuesto se preparó por el método descrito para el Compuesto 6 usando éster de N-hidroxisuccinimida del ácido nonanoico. La HPLC analítica mostró que este material era 98,4% puro. P.f. 74-75° C. ¹H NMR (CDCl₃) δ 6,86-6,76 (m, 3H), 5,83 (d, J = 7,3 Hz, 1H), 4,90 (d, J = 3,3 Hz, 1H), 4,24 (s, 4H), 4,24-4,18 (m, 1H), 2,85-2,75 (m, 2H), 2,69-2,62 (m, 4H), 2,10 (t, J = 7,3 Hz, 2H), 1,55-1,45 (m, 2H), 1,70-1,85 (m, 4H), 1,70-1,85 (m, 4H), 1,30-1,15 (m, 10H), 0,87 (t, J = 6,9 Hz, 3H) ppm.

Compuesto 8

[2-(2',3'-dihidro-benzo[1,4]dioxin-6'-il)-2-hidroxi-1-pirrolidin-1-ilmetil-etil]-amida del ácido (1R,2R)-decanoico



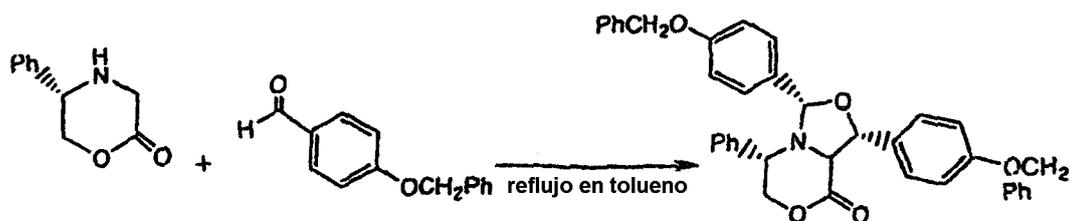
Compuesto 8

Este compuesto se preparó por el método descrito para el Compuesto 6 usando éster de *N*-hidroxisuccinimida del ácido decanoico. La HPLC analítica mostró que este material era 99,3% puro. P.f. 97,5-98,5° C. ¹H NMR (CDCl₃) δ 6,86-6,76 (m, 3H), 5,83 (d, *J* = 7,5 Hz, 1H), 4,90 (d, *J* = 3,4 Hz, 1H), 4,24 (s, 4H), 4,24-4,18 (m, 1H), 2,85-2,75 (m, 2H), 2,69-2,62 (m, 4H), 2,10 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 1,55-1,45 (m, 2H), 1,70-1,85 (m, 4H), 1,70-1,85 (m, 4H), 1,30-1,15 (m, 12H), 0,87 (t, *J* = 6,8 Hz, 3H) ppm.

Ejemplo Comparativo 5 - Preparación del Compuesto 13

Compuesto Intermedio 9

(1*R*,3*S*,5*S*,8*aS*)-1,3-Bis-(4-benciloxi-fenil)-5-fenil-tetrahidro-oxazolo[4,3-*c*][1,4]oxazin-8-ona

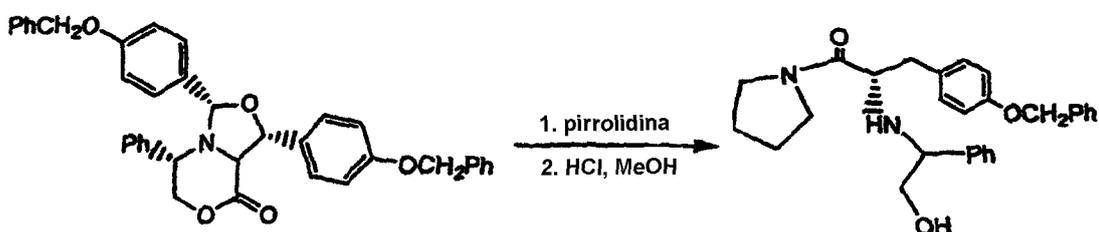


La sal de HCl de (5*S*)-5-fenilmorfolín-2-ona (57,45 g, 268,9 mmol) se agitó con acetato de etilo (500 ml) y bicarbonato de sodio acuoso saturado (250 ml) durante 30 minutos, hasta que la disolución bifásica fue transparente. Se separaron las fases, y la capa acuosa se extrajo con acetato de etilo (2 x 250 ml). Las fases orgánicas combinadas se lavaron con una disolución saturada de cloruro de sodio (250 ml). La capa orgánica se secó con sulfato de sodio, se filtró, se concentró hasta un aceite, y se secó a vacío durante 60 minutos. La (5*S*)-5-fenilmorfolín-2-ona se obtuvo en un 86% de rendimiento (40,98 g, 231,3 mmol).

La (5*S*)-5-fenilmorfolín-2-ona (40,98 g, 231,3 mmol) y 4-benciloxibenzaldehído (Aldrich, 147,3 g, 694 mmol, 3,0 equivalentes) se disolvieron en tolueno (750 ml). La reacción se equipó con una trampa Dean Stark y un condensador de reflujo. La disolución se llevó a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 2 días. Después de enfriar hasta la temperatura ambiente, se retiró el disolvente por rotoevaporación y el aceite se disolvió en acetato de etilo (500 ml). Se añadió una disolución de bisulfito de sodio (Aldrich, 125 g) disuelto en agua (250 ml) y la mezcla de dos fases se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. El sólido blanco resultante se retiró por filtración y se lavó con acetato de etilo. El filtrado se puso en un embudo separador y se separaron las capas. La capa orgánica se lavó con agua (250 ml), una disolución acuosa saturada de cloruro de sodio (250 ml) y después se secó (sulfato de sodio), se filtró y se sometió a rotoevaporación hasta un aceite espumoso (144 g). Después de secar a vacío durante 1 hora, se añadió éter *tert*-butilmetílico (1450 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 5 horas. El sólido blanco-amarillo resultante se filtró. El sólido se secó a vacío. El Compuesto Intermedio 9 se obtuvo en 27% en rendimiento (41,64 g, 71,46 mmol). ¹H NMR (CDCl₃) δ 7,5-6,8 (m, 23H), 5,0 y 5,1 (2s, 4H), 4,5-4,3 (m, 2H), 4,2-4,1 (m, 2H), ppm.

Compuesto Intermedio 10

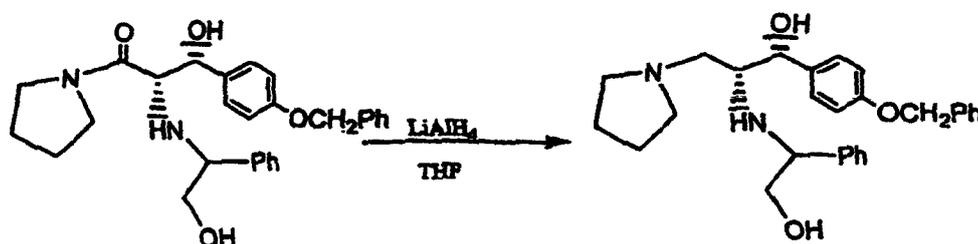
(2*S*,3*R*,1''*S*)-3-(4-Benciloxi-fenil)-3-hidroxi-2-(2''-hidroxi-1''-fenil-etilamino)-1-pirrolidin-1-il-propan-1-ona



Al Compuesto Intermedio **9** (45,1 g, 77,4 mmol) disuelto en tetrahidrofurano (250 ml) se añadió pirrolidina (Aldrich, 33 ml, 395 mmol, 5,1 equivalentes). La disolución se agitó tapada en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente durante 16-18 horas. El disolvente se retiró por rotoevaporación para dar un aceite espumoso amarillo que se secó a vacío durante 0,5 horas. El producto bruto se disolvió en metanol (220 ml) y se añadió una disolución acuosa de HCl 1 M (220 ml). La disolución se llevó a reflujo durante 4 horas. Después de enfriar hasta la temperatura ambiente, el metanol se retiró por rotoevaporación. Al aceite resultante se añadió lentamente NaOH acuoso 10 M (22 ml para ajustar el pH a 14). El producto se extrajo tres veces con cloruro de metileno (300, 100, 100 ml) de la capa acuosa básica. Después de secar con sulfato de sodio, la capa orgánica combinada se filtró y se sometió a rotoevaporación para dar un sólido espumoso amarillo-naranja. Se añadió éter terc-butilmetílico (300 ml) y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 7 horas. El sólido blanco-amarillo resultante se filtró, se lavó con éter terc-butilmetílico (50 ml) y se secó a vacío. El Compuesto Intermedio **10** se obtuvo en 83% de rendimiento (29,77 g). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7,4-7,2 (m, 12H), 6,9-6,8 (m, 2H), 5,05 (cuarteto AB, 2H), 4,47 (d, $J = 8,5$, 1H), 3,9-3,3 (m, 3H), 3,05 (d, $J = 8,5$, 1H), 3,0-2,8 (m, 2H), 2,3-2,2 (m, 1H), 1,85-1,7 (m, 1H), 1,45-1,15 (m, 4H) ppm.

Compuesto Intermedio 11

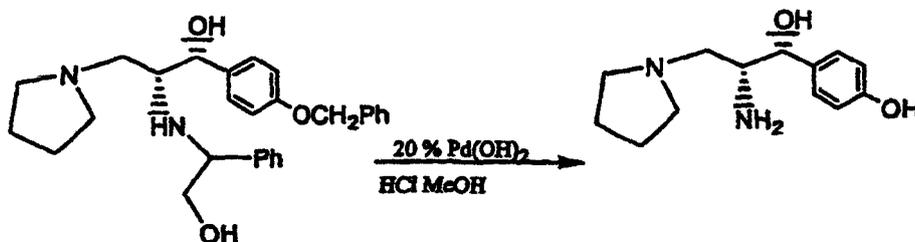
(1R,2R,1''S)-1-(4-Benciloxi-fenil)-2-(2''-hidroxi-1''-fenil-etilamino)-3-pirrolidin-1-il-propan-1-ol



En un matraz de 3 cuellos con embudo de goteo y condensador en atmósfera de nitrógeno se añadió LiAlH_4 (Aldrich, 6,3 g, 166 mmol, 2,57 equivalentes) y tetrahidrofurano anhidro (75 ml). Se añadió gota a gota una disolución del Compuesto Intermedio **10** (29,7 g, 64,48 mmol) en tetrahidrofurano anhidro (300 ml) a la reacción a lo largo de 15-30 minutos. La reacción se llevó a reflujo en atmósfera de nitrógeno durante 9 horas. La reacción se enfrió en un baño de hielo y se añadió muy cuidadosamente agua (7,0 ml) gota a gota (siendo producida una vigorosa reacción exotérmica con hidrógeno). Se añadió gota a gota una disolución acuosa de NaOH al 15% (7,0 ml) seguido de agua (21 ml). A medio camino de la adición de agua final se formó una gran cantidad de un sólido blanco. Se interrumpió mediante la adición de cloruro de metileno (250 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 15 minutos, se filtró la mezcla a través de un tapón de celite (17 cm de diámetro por 1 cm de altura). El precipitado se lavó con cloruro de metileno (2 x 250 ml). El filtrado se sometió a rotoevaporación hasta un aceite. El aceite se disolvió en HCl acuoso 1 M (300 ml). Esta capa acuosa se lavó con éter terc-butilmetílico (2 x 200 ml). Después de enfriar en un baño de hielo, se añadió cuidadosamente NaOH acuoso 10 M (35 ml) a la capa acuosa (pH final = 14). El producto se extrajo tres veces con cloruro de metileno (300 ml, 200 ml, y 100 ml). Después de secar con sulfato de sodio, la disolución se filtró y se sometió a rotoevaporación para dar un sólido blanco. Después de secar, se obtuvo el Compuesto Intermedio **11** en 94% de rendimiento (26,9 g). $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7,46-7,115 (m, 12H), 6,98-6,96 (m, 2H), 5,08 (s, 2H), 4,49 (d, $J = 4,7$, 1H), 3,70-3,65 (m, 1H), 3,60-3,55 (m, 1H), 3,54-3,45 (m, 1H), 3,00-2,90 (m, 1H), 2,7-2,6 (m, 1H), 2,36 (s a, 4H), 2,15-2,05 (m, 1H), 1,70 (s a, 4H) ppm.

Compuesto Intermedio 12

(1R,2R)-2-Amino-1-(4-benciloxi-fenil)-3-pirrolidin-1-il-propan-1-ol, sal de cloruro de hidrógeno

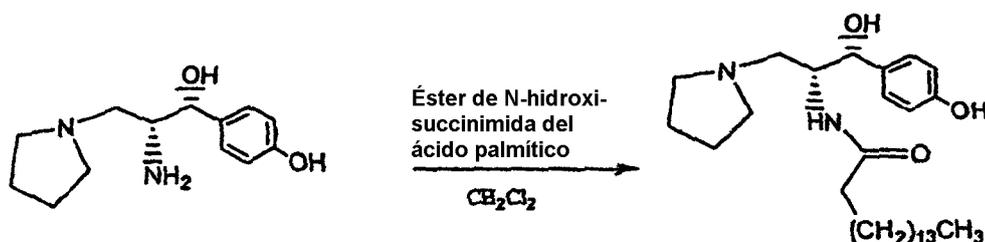


Se disolvió el Compuesto Intermedio **11** (26,9 g, 60,24 mmol) en metanol (400 ml) y se añadió HCl acuoso 1 M (130 ml). Después de ser puesto en atmósfera de nitrógeno, se añadió hidróxido de paladio al 20% sobre carbón (catalizador de Pearlman, Aldrich, 10,8 g). La reacción se puso en atmósfera de nitrógeno y después en atmósfera de hidrógeno por evacuación y llenado a un globo. La mezcla se agitó durante 48 horas a temperatura ambiente bajo un globo de hidrógeno. La reacción se puso en atmósfera de nitrógeno y se filtró a través de una almohadilla de celite. La almohadilla de celite se lavó con agua al 10% en metanol (250 ml) y agua (50 ml). El disolvente se retiró por rotoevaporación y coevaporación con tolueno (3 x 100 ml). El sólido espumoso se disolvió en isopropanol (300

ml) a reflujo. La disolución se enfrió hasta la temperatura ambiente y se añadió éter *tert*-butilmetílico (550 ml). Después de agitar a temperatura ambiente durante 2 horas, el sólido blanco se filtró y se lavó con éter *tert*-butilmetílico. Después de secar, se obtuvo el Compuesto Intermedio **12** en aproximadamente 99% de rendimiento (18 g). $^1\text{H NMR}$ ($\text{DMSO}-d_6$) δ 9,68 (s a, 1H), 8,53 (s a, 2H), 7,24 (d, $J = 8,55$ Hz, 2H), 6,80 (d, $J = 8,55$ Hz, 2H), 4,72 (d, $J = 7,0$ Hz, 1H), 3,8-3,6 (m, 2H), 3,4-3,6 (m, 3H), 3,0-3,2 (m, 2H), 2,7-2,5 (s a, 1H), 2,0-1,7 (s a, 4H) ppm.

Compuesto Comparativo 13

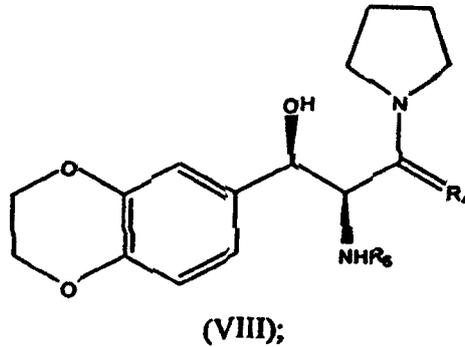
[2-(4-Benciloxi-fenil)-2-hidroxi-1-pirrolidin-1-ilmetil-etil]-amida del ácido (1R,2R)-hexadecanoico



Al Compuesto Intermedio **12** (16,17 g, 49,36 mmol) suspendido en tetrahidrofurano (500 ml) se añadió trietilamina (28 ml, 4 equivalentes). Una disolución de éster de N-hidroxisuccinimida del ácido palmítico (Sigma, 19,2 g, 54,29 mmol) disuelto en tetrahidrofurano (125 ml) se añadió a lo largo de 30 minutos en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente. La disolución se agitó a temperatura ambiente durante 18-20 horas. El precipitado blanco se retiró por filtración y el filtrado se sometió a rotoevaporación hasta un sólido blanquecino espumoso (35,5 g). El material bruto se disolvió en cloruro de metileno (500 ml) y se lavó con agua (100 ml) y una disolución acuosa saturada de carbonato de sodio (100 ml). Después de secar con sulfato de sodio, la disolución se filtró y se sometió a rotoevaporación para dar un sólido espumoso blanquecino (24,75 g). Este material se recristalizó a partir de 40% de acetato de etilo en heptano (500 ml, filtración en caliente). El Compuesto Intermedio **13** se obtuvo en 61% de rendimiento (14,45 g). La HPLC analítica quiral mostró que este material era 99,7% el isómero R,R deseado. La HPLC analítica mostró que este material era 99,6% puro. P.f. 95-97° C. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3) δ 7,15 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 6,70 (d, $J = 8,5$ Hz, 2H), 6,0 (d, $J = 7,3$, 1H), 4,96 (d, $J = 3,8$, 1H), 4,3-4,2 (m, 1H), 2,9-2,7 (m, 2H), 2,65-2,55 (m, 4H), 2,10 (t, $J = 7,5$, 2H), 1,75 (s a, 4H), 1,58-1,46 (m, 2H), 1,32-1,16 (m, 24H), 0,9 (t, $J = 6,7$, 3H) ppm.

REIVINDICACIONES

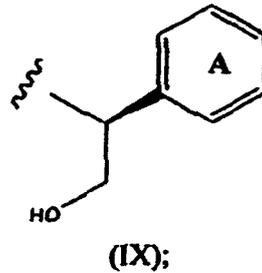
1. Un compuesto representado por la siguiente fórmula estructural (VIII):



una sal del compuesto, un enantiómero del compuesto o una sal del enantiómero, en donde:

5 R_4 es $-H_2$ o $=O$; y

R_6 se representa por la siguiente fórmula estructural (IX):



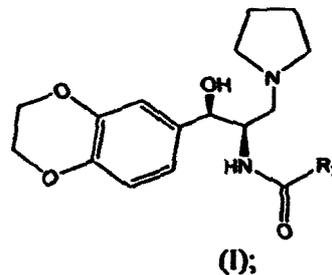
en donde el anillo de fenilo A está sustituido o no sustituido; o

R_4 es $-H_2$ y R_6 es $-H$.

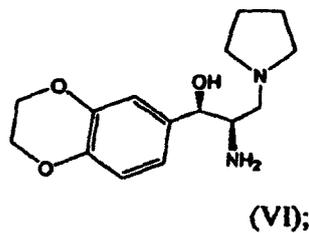
10 2. El compuesto de la reivindicación 1, en donde el anillo de fenilo A es no sustituido.

3. El compuesto de la reivindicación 1, en donde R_4 es $-H_2$ y R_6 es $-H$.

4. Un método para preparar un compuesto representado por la siguiente fórmula estructural (I):



15 en donde R_7 es un grupo alquilo o alqueniilo C7 a C10, que comprende la etapa de acilar un compuesto de partida representado por la siguiente fórmula estructural (VI):



con $R_7-C(O)-X$, en donde X es un grupo saliente.

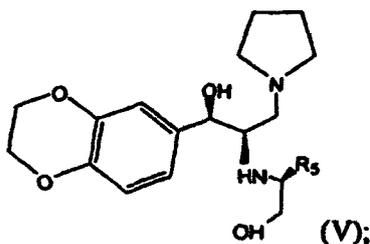
5. El método de la reivindicación 4, en donde R_7 es un grupo alquilo C7 de cadena lineal.

6. El método de la reivindicación 4 o 5, en donde el agente de acilación es un haluro de ácido, un anhídrido o un éster.

5 7. El método de la reivindicación 4 o 5, en donde X es -Cl.

8. El método de la reivindicación 4 o 5, en donde X es *N*-hidroxisuccinimidilo.

9. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 4-8, en donde el compuesto de partida se prepara desbencilando el grupo $-NHCH(-CH_2OH)R_5$ de un compuesto de amina representado por la siguiente fórmula estructural (V):



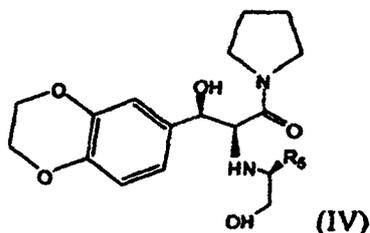
10

en donde R_5 es un grupo fenilo sustituido o no sustituido.

10. El método de la reivindicación 9, en donde la desbencilación es por hidrogenación.

11. El método de la reivindicación 9 o 10, en donde R_5 es un grupo fenilo.

15 12. El método de una cualquiera de las reivindicaciones 4-11, en donde el compuesto de amina se prepara haciendo reaccionar un compuesto acíclico representado por la siguiente fórmula estructural (IV):



con un agente reductor de amidas.

13. El método de la reivindicación 12, en donde el agente reductor de amidas es hidruro de litio y aluminio o borano tetrahidrofurano.

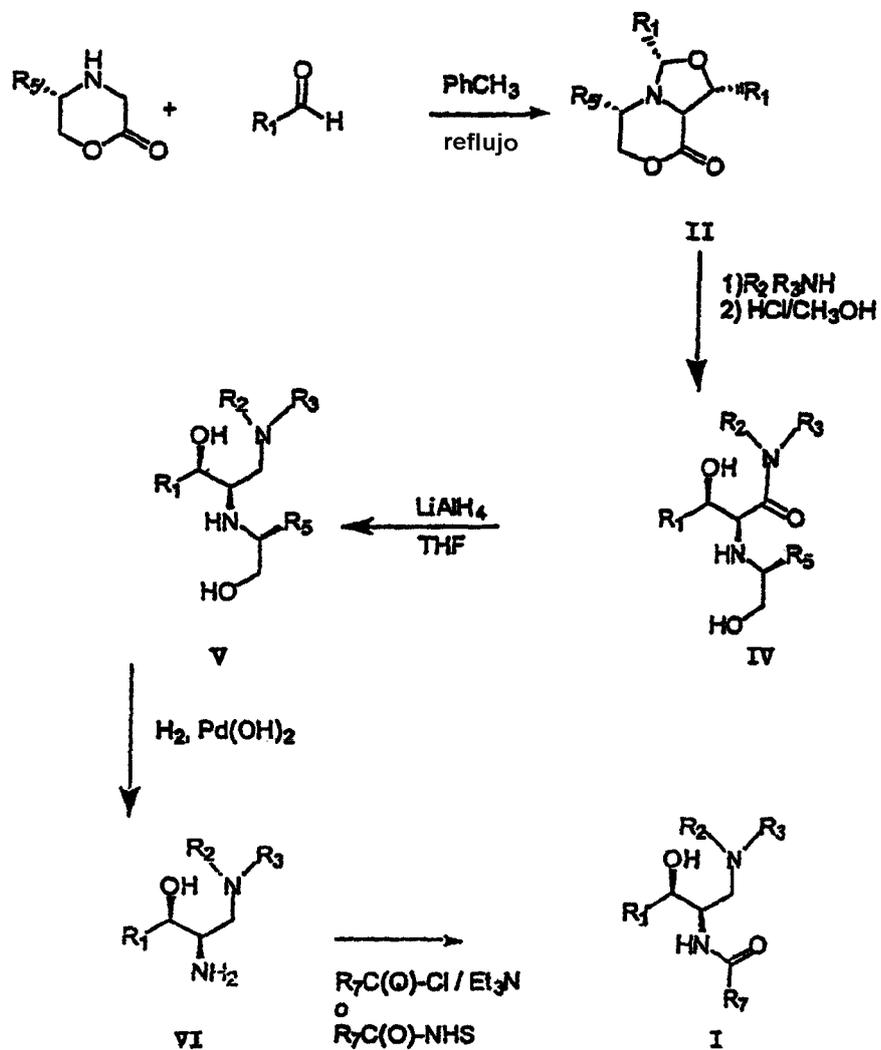
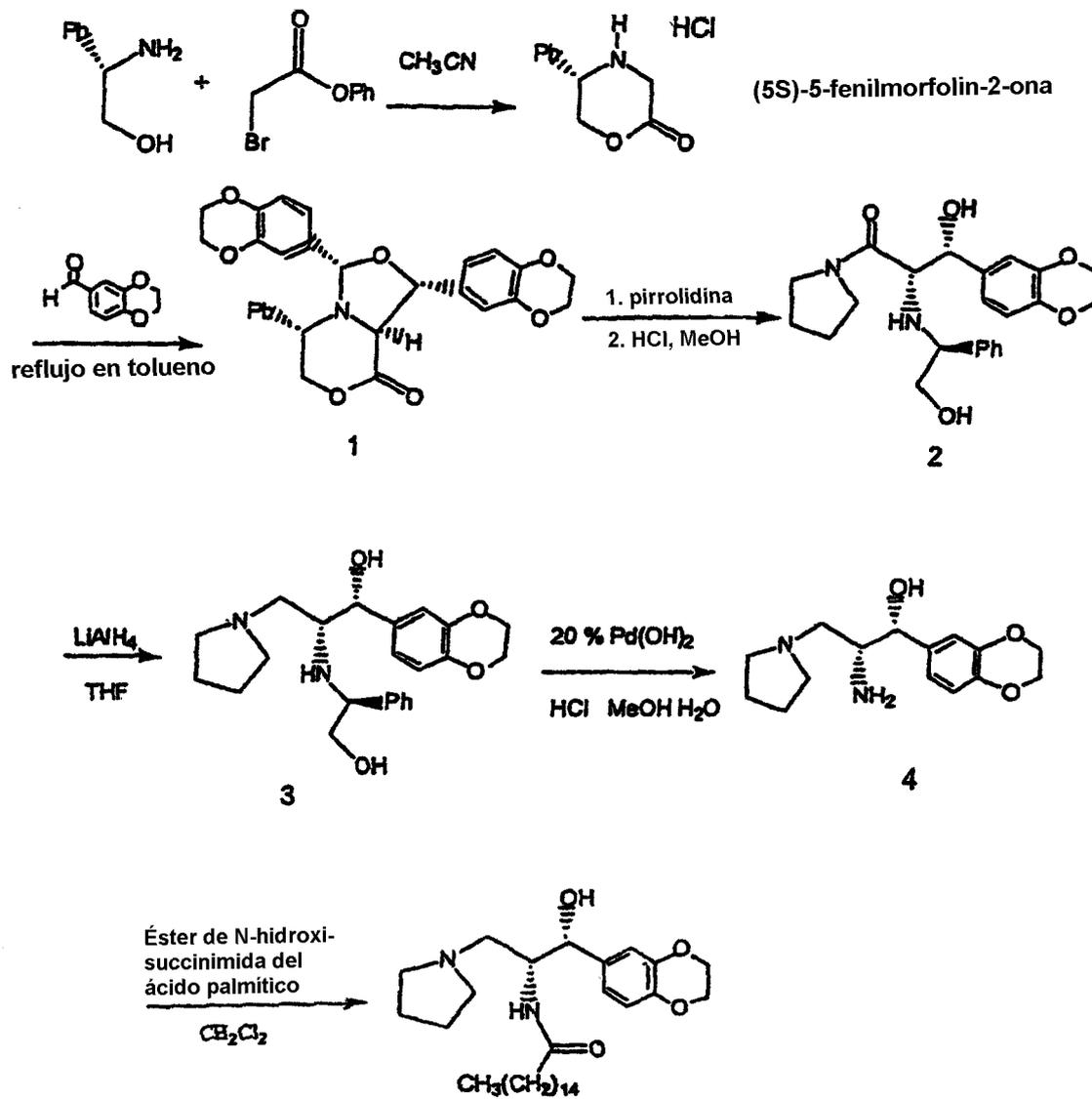


Figura 1



Compuesto 5

Figura 2

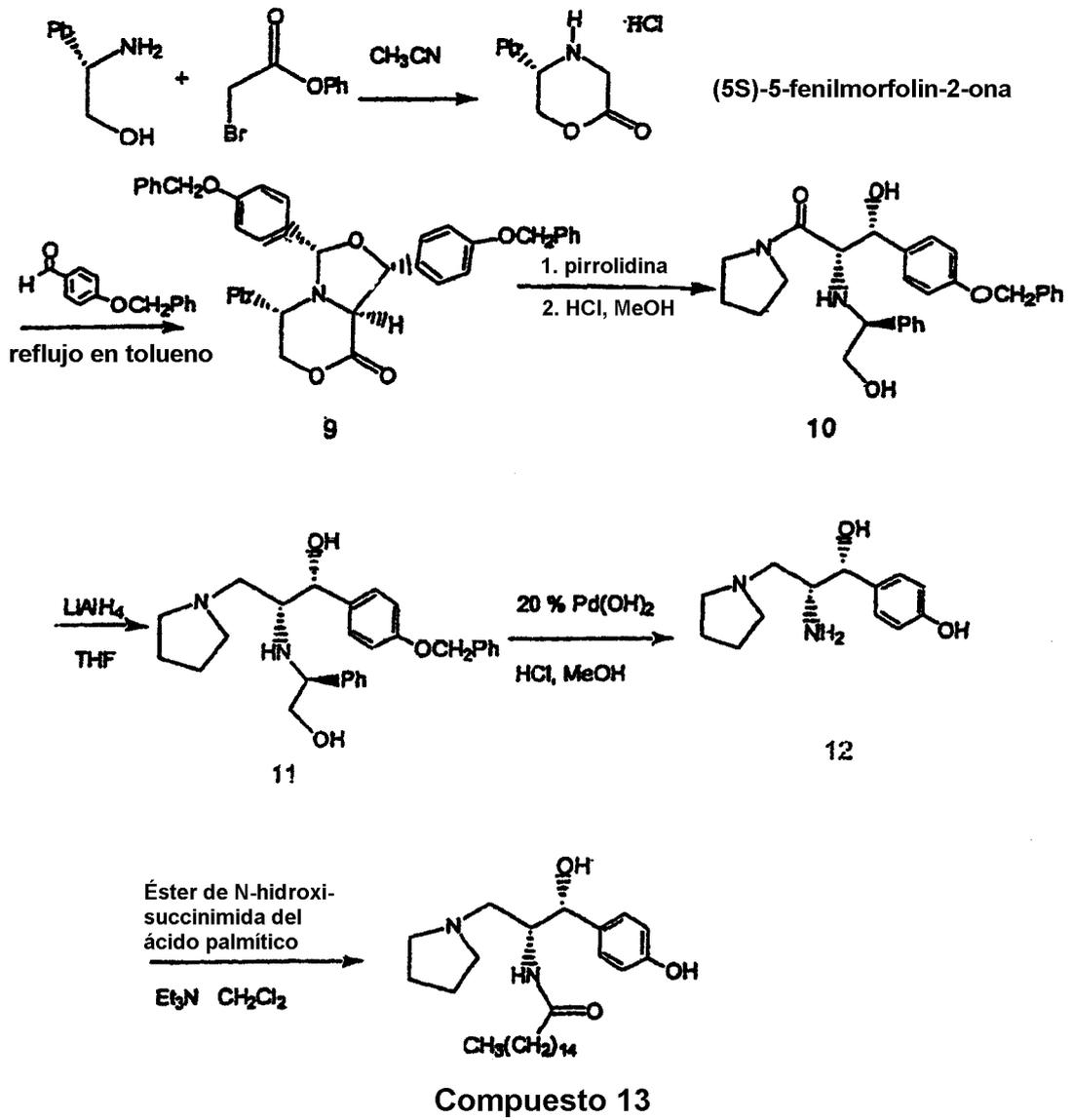
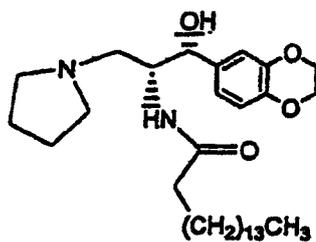
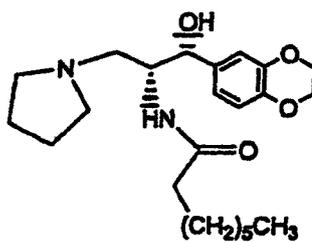


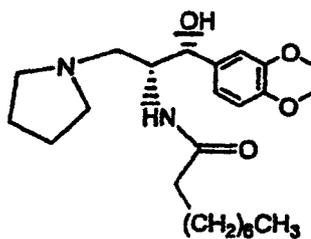
Figura 3



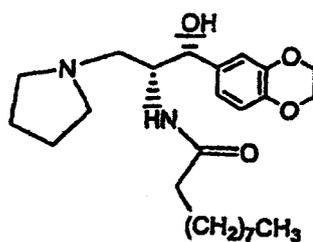
Compuesto 5



Compuesto 6



Compuesto 7



Compuesto 8

Figura 4