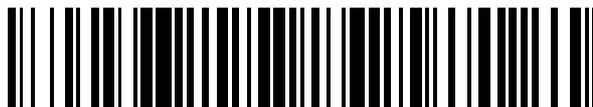


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 748 064**

21 Número de solicitud: 201830881

51 Int. Cl.:

C07C 401/00 (2006.01)
C07C 13/465 (2006.01)
C07C 49/443 (2006.01)
C07C 11/28 (2006.01)
G01N 33/82 (2006.01)
G01N 33/58 (2006.01)
G01N 24/08 (2006.01)
C07B 59/00 (2006.01)

12

SOLICITUD DE PATENTE

A1

22 Fecha de presentación:

12.09.2018

43 Fecha de publicación de la solicitud:

12.03.2020

71 Solicitantes:

**UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE
COMPOSTELA (100.0%)
Edificio EMPRENDIA - Campus Vida
15782 Santiago de Compostela (A Coruña) ES**

72 Inventor/es:

**SIGÜEIRO PONTE, Rita;
LOUREIRO MARTINEZ, Julián;
MOURIÑO MOSQUERA, Antonio y
MAESTRO SAAVEDRA, Miguel Angel**

74 Agente/Representante:

TORRENTE VILASÁNCHEZ, Susana

54 Título: **COMPUESTOS DE LA VITAMINA D CON MARCAJE ISOTÓPICO**

57 Resumen:

Compuestos de la vitamina D con marcaje isotópico. La invención se dirige a compuestos de fórmula I caracterizados por ser derivados de las vitaminas D₂ y D₃ con marcaje isotópico (¹³C, ¹⁴C, ¹¹C) en alguno de sus carbonos a procedimientos para la obtención de dichos compuestos y a intermedios útiles en su síntesis. Estos compuestos de fórmula I son útiles como patrones internos en método de cuantificación de vitamina D, de sus metabolitos y/o análogos por espectrometría de masas; como ligandos trazadores del receptor nuclear de la vitamina D para su estudio por resonancia magnética nuclear (RMN), como herramientas para el estudio del metabolismo y como agentes en las técnicas de tomografía de emisión de positrones (PET).

ES 2 748 064 A1

DESCRIPCIÓN

Compuestos de la vitamina D con marcaje isotópico

Sector de la técnica

La invención se dirige a compuestos de fórmula I caracterizados por ser derivados de las vitaminas D₂ y D₃ con marcaje isotópico (¹³C, ¹⁴C, ¹¹C) en alguno de sus carbonos a procedimientos para la obtención de dichos compuestos y a intermedios útiles en su síntesis. Estos compuestos de fórmula I son útiles como patrones internos en métodos de cuantificación de vitamina D, de sus metabolitos y/o análogos por espectrometría de masas; como ligandos trazadores del receptor nuclear de la vitamina D para su estudio por resonancia magnética nuclear (RMN), como herramientas para el estudio del metabolismo y como agentes en las técnicas de tomografía de emisión de positrones (PET).

Estado de la técnica

Las etapas de la activación metabólica y las funciones de la vitamina D han sido descubiertas gracias al empleo de metabolitos y análogos de la vitamina D que incorporaban trazadores radiactivos.

Metabolitos de la vitamina D₃ con incorporación de ¹³C en las posiciones 7,9 y 19 (véase W.H. Okamura y col., *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 1637-1650) son útiles como sustancias de referencia isotópicamente sustituidas de diferentes vitaminas D y metabolitos para su empleo en métodos de cuantificación de la vitamina D (de sus metabolitos y/o análogos) en plasma sanguíneo y tejidos por espectrometría de masas directa o mediante técnicas acopladas en serie (tándem) con cromatografía de gases o de líquidos; como ligandos trazadores del receptor nuclear de la vitamina D para su estudio por RMN y agentes en las técnicas de tomografía de emisión de positrones (PET).

25 Descripción de la Invención

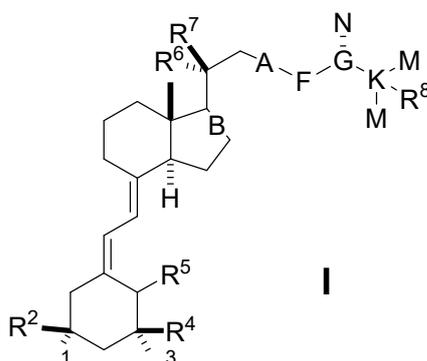
La presente invención se dirige a compuestos con grados de incorporación elevados de ¹³C en los metabolitos y análogos de las vitaminas D₃ y D₂. Dichos compuestos

pueden presentar marcaje en las posiciones 19, 23, 24, 25, 26, 27 y/o 28. Los autores de la presente invención han desarrollado una metodología lo suficientemente versátil como para poder elegir en la estructura de la vitamina la posición que se desea marcar.

Los compuestos de la invención presentan la cadena lateral propia de la vitamina, sin hidroxilo en C25, son compuestos con mayor complejidad que los conocidos y 5 opcionalmente tienen una configuración epimérica en C1, C3 y/o C20.

En un aspecto, la presente invención se dirige a compuestos de fórmula I

10



en donde

A es un enlace sencillo, doble o triple,

B es un enlace sencillo o doble,

F se selecciona entre metileno (CH₂), ¹³C-metileno (¹³CH₂), ¹¹C-metileno (¹¹CH₂), y ¹⁴C-metileno (¹⁴CH₂),

15 G se selecciona entre se selecciona entre metileno (CH₂), ¹³C-metileno (¹³CH₂), ¹¹C-metileno (¹¹CH₂), y ¹⁴C-metileno (¹⁴CH₂) cuando N es hidrógeno, y se selecciona entre -CH-, ¹³CH₂-, ¹¹CH₂-, y ¹⁴CH₂ cuando N no es hidrógeno,-

K se selecciona entre -C-, ¹³C-, ¹¹C-y ¹³C-,

M es un grupo metilo, metilo-¹³C, trideuterometilo-¹³C, metilo-¹¹C, metilo-¹⁴C, etilo

20 N es un hidrógeno, metilo, hidroxilo ó -OR, en donde R se selecciona entre los grupos metoximetilo, metoxietilo, trimetilsililetoximetilo, trimetilsililo, trietilsililo, *t*-butildimetilsililo, tri-*iso*-propilsililo, *t*-butildifenilsililo, dimetilfenilsililo, dimetilbencilsililo, benzoato, *p*-nitrobenzoato, pivalato o acetato,

R¹, R², R³ y R⁴ se seleccionan independientemente entre hidrógeno, hidroxilo ó -OR, 25 en donde R se selecciona entre los grupos metoximetilo, metoxietilo, trimetilsililetoximetilo, trimetilsililo, trietilsililo, *t*-butildimetilsililo, tri-*iso*-propilsililo, *t*-

butildifenilsililo, dimetilfenilsililo, dimetilbencilsililo, benzoato, *p*-nitrobenzoato, pivalato o acetato,

5 R^5 se seleccionan independientemente entre hidrógeno, grupo metileno ($=CH_2$), grupo dideuterometileno ($=CD_2$), grupo metileno- ^{13}C ($=^{13}CH_2$), grupo dideuterometileno- ^{13}C ($=^{13}CD_2$), grupo metileno- ^{11}C ($=^{11}CH_2$) o grupo metileno- ^{14}C ($=^{14}CH_2$),

R^6 y R^7 se seleccionan independientemente entre hidrógeno ó -metilo,

10 R^8 se seleccionan independientemente entre hidrógeno, hidroxilo ó -OR, en donde R se selecciona entre los grupos metoximetilo, metoxietilo, trimetilsililetoximetilo, trimetilsililo, trietilsililo, *t*-butildimetilsililo, tri-*iso*-propilsililo, *t*-butildifenilsililo, dimetilfenilsililo, dimetilbencilsililo, benzoato, *p*-nitrobenzoato, pivalato o acetato,

En una realización particular la invención se dirige a los compuestos de fórmula I donde F es $^{-13}CH_2-$ y G puede ser $^{-13}CH_2-$ o $^{-13}CH-$.

15 En una realización particular la invención se dirige a los compuestos de fórmula I donde F es $^{-13}CH_2-$, G puede ser $^{-13}CH_2-$ o $^{-13}CH-$ y K sea ^{13}C .

En una realización particular la invención se dirige a los compuestos de fórmula I donde F es $^{-13}CH_2-$, G puede ser $^{-13}CH_2-$ o $^{-13}CH-$, K sea ^{13}C y M sea ^{13}C -metilo ($^{13}CH_3$).

20

En una realización particular la invención se dirige a los compuestos de fórmula I donde K sea ^{13}C y M sea ^{13}C -metilo ($^{13}CH_3$).

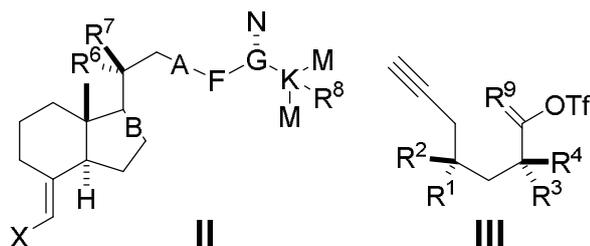
En un aspecto particular, la invención se dirige a los siguientes compuestos de fórmula I:

- 25 19,23,24,25,26,27- $^{13}C_6$ -1 α -hidroxivitamina D₃ (**1a**),
 19,23,24,25,26,27- $^{13}C_6$ -1 α ,25-dihidroxivitamina D₃ (**1b**),
 23,24,25,26,27- $^{13}C_5$ -vitamina D₃ (**1c**),
 23,24,25,26,27- $^{13}C_5$ -25-hidroxivitamina D₃ (**1d**),
 23,24,25,26,27- $^{13}C_5$ -1 α -hidroxivitamina D₃ (**1e**),
 30 23,24,25,26,27- $^{13}C_5$ -1 α ,25-dihidroxivitamina D₃ (**1f**),
 23,24,25,26,27- $^{13}C_5$ -3-*epi*-1 α ,25-dihidroxivitamina D₃ (**1g**),
 19,23,24,25,26,27- $^{13}C_6$ -1 α ,25-dihidroxivitamina D₂ (**2a**),
 23,24,25,26,27- $^{13}C_5$ -vitamina D₂ (**2b**),
 23,24,25,26,27- $^{13}C_5$ -25-hidroxivitamina D₂ (**2c**),
 35 23,24,25,26,27- $^{13}C_5$ -1 α -hidroxivitamina D₂ (**2d**),
 23,24,25,26,27- $^{13}C_5$ -1 α ,25-dihidroxivitamina D₂ (**2e**),

23,24,25,26,27-¹³C₅-3-epi-1 α ,25-dihidroxitamina D₂ (**2f**).

Síntesis de los compuestos de fórmula I

- 5 Otro aspecto de la invención se refiere a un procedimiento para la preparación de los compuestos de fórmula I, que comprende un acoplamiento de los compuestos II y III en presencia de un catalizador,



- 10 donde A, B, F, G, K, M, N, R¹, R², R³, R⁴, R⁶, R⁷ and R⁸ se seleccionan como en la fórmula I,

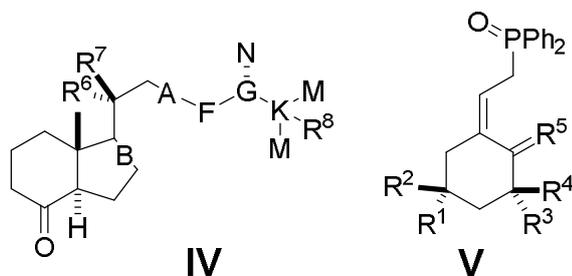
R⁹ se seleccionan independientemente entre metileno (=CH₂), dideuterometileno (=CD₂), ¹³C-metileno- (¹³CH₂), ¹³C-dideuterometileno (= ¹³CD₂), ¹¹C-metileno (= ¹¹CH₂) o ¹⁴C-metileno (= ¹⁴CH₂),

X es bicloruro de indio (-InCl₂), bromuro de cinc (-ZnBr) o dialcoxiboro [-B(OR)₂].

- 15 En un aspecto particular, el catalizador es seleccionado preferentemente entre tetra-*kis*-trifenilfosfina paladio(0), dicloruro de paladio(II) bis-trifenilfosfina, dicloruro de paladio(II) bis-(difenilfosfin)ferroceno, acetato de paladio(II), dicloruro de paladio(II)bis-acetonitrilo, tris(dibenzilidenacetona)dipaladio(0), acetilacetonato de níquel(II), o bis(1,5-diciclooctadienil) níquel(0).

20

En otro aspecto de la invención se dirige a un procedimiento alternativo para la preparación de los compuestos de fórmula I que comprende una reacción de Wittig-Horner entre los compuestos IV y V en presencia de una base,

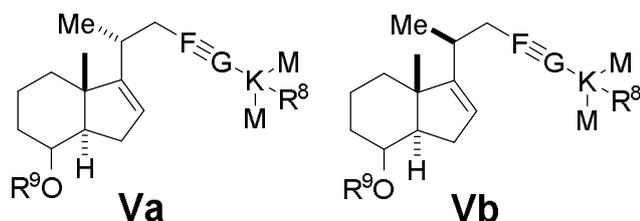


- 25 donde A, B, F, G, K, M, N, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ and R⁸ se seleccionan como en la fórmula I.

El elevado grado de incorporación isotópica de los compuestos de fórmula I que le confieren una elevada versatilidad al preparar compuestos derivados de la vitamina D con marcaje isotópico en determinadas posiciones, solo es posible obtenerlo a partir de un compuesto de fórmula II y IV con ese mismo grado de incorporación isotópica. De acuerdo a esto, los intermedios de fórmula V son claves ya que todos y cada uno de sus grupos funcionales esta seleccionado para permitir la incorporación isotópica en los derivados de la vitamina D de la presente invención, y permite obtener los compuestos de fórmula II y IV de manera eficaz y en pocas etapas.

10

En una realización particular, la invención se refiere a la preparación de los compuestos de fórmula II anteriormente descritos a partir de los compuestos de Va o Vb, que comprende



15

- (a) hidrogenación catalítica,
- (b) desprotección, y
- (c) oxidación,

donde F, G, K, M, N and R⁸ se seleccionan como en la fórmula I.

20

donde R⁹ se selecciona entre trimetilsililo, trietilsililo, triisopropilsililo, terc-butildimetilsililo, terc-butildifenilsililo o terc-butildimetilsililo, acetato, benzoato, para-metoxibenzoato, pivalato.

donde F, G, K, M, N and R⁸ se seleccionan como en la fórmula I.

25

En una realización particular, la reducción completa del doble enlace y del triple enlace se lleva a cabo en presencia de un catalizador metálico en atmosfera de hidrógeno o por transferencia de hidrógeno. En una realización particular el catalizador metálico se selecciona de entre paladio sobre carbono, platino sobre carbono, rodio sobre carbono, níquel-Raney y el catalizador de Wilkinson.

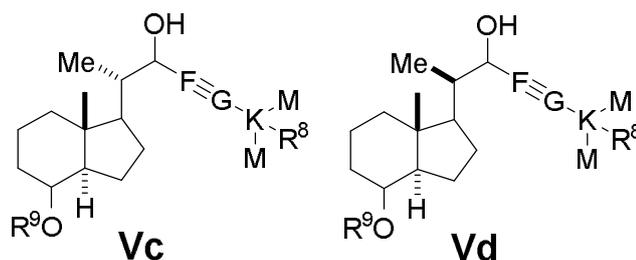
30

Un experto en la materia puede seleccionar diferentes condiciones para la desprotección de la etapa b), donde a partir del grupo -OR⁹ se obtiene un hidroxilo. Estas condiciones se seleccionan dependiendo del valor de R⁹, por ejemplo entre las condiciones descritas en Wuts, P. G. M., Greene, T. W.; "Protective Groups in Organic Synthesis", 4rd Ed., John

Wiley & Sons, Inc. 2007, New Jersey, páginas 24-222. Por ejemplo, en un caso en el que R^9 sea trimetilsililo, trietilsililo, triisopropilsililo, terc-butildimetilsililo, terc-butildifenilsililo o terc-butildimetilsililo es posible llevar a cabo la desprotección mediante la reacción con fluoruro de tetrabutilamonio, con disolución acuosa de ácido fluorhídrico o con fluoruro de piridinio.

Un experto en la materia puede seleccionar diferentes condiciones para llevar a cabo la oxidación de la etapa c) según se describen en R.C. Larock. Comprehensive Organic Transformations. John Wiley & Sons, Inc. 2nd. edition, 1999, Nueva York, páginas 1234-1248. Por ejemplo es posible llevar a cabo la oxidación empleando un derivado de cromo, como por ejemplo dicromato de piridinio, clorocromato de piridinio, trióxido de cromo, ácido crómico; periodinano de Dess-Martin o perrutenato de tetrapropilamonio.

En una realización particular, la invención se refiere a la preparación de los compuestos de fórmula II anteriormente descritos a partir de los compuestos de **Vc** o **Vd**, que comprende



- (a) hidrogenación parcial del triple enlace a un alqueno cis,
 - (b) formación de un buen grupo saliente (se selecciona entre independientemente entre un grupo carbamato [-OC(O)NH-], un grupo dialquilfosfato [-OP(O)(OR)₂] o un grupo éster [-OC(O)R],
 - (c) sustitución nucleófila bimolecular asistida por el doble enlace,
 - (d) desprotección, y
 - (e) oxidación,
- donde F, G, K, M, N and R^8 se seleccionan como en la fórmula I.
- donde R^9 se selecciona entre trimetilsililo, trietilsililo, triisopropilsililo, terc-butildimetilsililo, terc-butildifenilsililo o terc-butildimetilsililo, acetato, benzoato, para-metoxibenzoato, pivalato.

En una realización particular, la reducción parcial del triple enlace se lleva a cabo en presencia de un catalizador metálico envenenado en atmosfera de hidrógeno o por transferencia de hidrógeno. En una realización particular el catalizador metálico se

selecciona de entre catalizador de Lindlar, paladio sobre carbono, y el catalizador de Wilkinson.

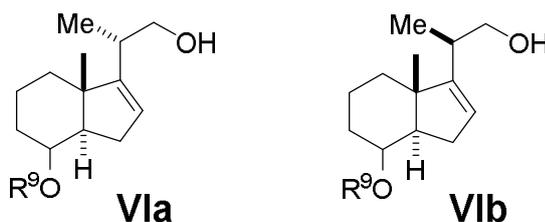
Un experto en la materia puede seleccionar diferentes condiciones para la formación del carbamato de la etapa b). En una realización particular, se emplea isocianato de fenilo en disolución en piridina.

Un experto en la materia conoce la metodología para realizar sobre el carbamato una sustitución nucleófila bimolecular asistida por el doble enlace con estereoquímica sin mediante el empleo de cupratos (véase A. Mouriño y col., *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1264-1269).

Un experto en la materia puede seleccionar diferentes condiciones para la desprotección de la etapa b), donde a partir del grupo $-OR^9$ se obtiene un hidroxilo. Estas condiciones se seleccionan dependiendo del valor de R^9 , por ejemplo entre las condiciones descritas en Wuts, P. G. M., Greene, T. W.; "Protective Groups in Organic Synthesis", 4rd Ed., John Wiley & Sons, Inc. 2007, New Jersey, páginas 24-222. Por ejemplo, en un caso en el que R^9 sea un éster es posible llevar a cabo la desprotección mediante la reacción con hidruro de litio y aluminio, con hidruro de aluminio(III), con hidróxidos alcalinos y alcalinoterreos en THF/ H_2O .

Un experto en la materia puede seleccionar diferentes condiciones para llevar a cabo la oxidación de la etapa c) según se describen en R.C. Larock. *Comprehensive Organic Transformations*. John Wiley & Sons, Inc. 2nd. edition, 1999, Nueva York, páginas 1234-1248. Por ejemplo es posible llevar a cabo la oxidación empleando un derivado de cromo, como por ejemplo dicromato de piridinio, clorocromato de piridinio, trióxido de cromo, ácido crómico; periodinano de Dess-Martin o perrutenato de tetrapopilamonio.

En una realización particular, la invención se refiere a la preparación de los compuestos de fórmula **Va** o **Vb** anteriormente descritos a partir de los compuestos de **Vla** o **Vlb**, que comprende



(a) formación del tosilato o del yoduro,

(b) sustitución nucleófila bimolecular con los aniones del 2-metil-3-butin-2-ol protegido que incorporan marcajes isotópicos en las posiciones 23,24,25,26 y 27 (posiciones F;G,K,M); 23,24 y 25 (posiciones F;G,K); 25,26 y 27 (posiciones K,M);o 23 y 24 (posiciones F;G).

5 (c) desprotección, y

(d) oxidación,

donde F, G, K, M, N and R⁸ se seleccionan como en la fórmula I.

donde R⁹ se selecciona entre trimetilsililo, trietilsililo, triisopropilsililo, terc-butildimetilsililo, terc-butildifenilsililo o terc-butildimetilsililo, acetato, benzoato, para-metoxibenzoato, pivalato.

10

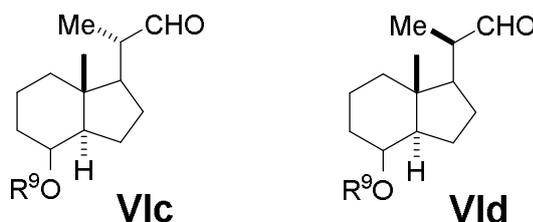
donde R⁹ se selecciona entre trimetilsililo, trietilsililo, triisopropilsililo, terc-butildimetilsililo, terc-butildifenilsililo o terc-butildimetilsililo, acetato, benzoato, para-metoxibenzoato, pivalato.

La forma de preparación de los compuestos de formula **Vla** y **Vlb** se encuentran descrita en la patente ES2396524 (Intermedios versátiles y funcionalizados en la síntesis de vitamina D y nuevos derivados de vitamina D).

15

En una realización particular, la invención se refiere a la preparación de los compuestos de formula **Vc** o **Vc** anteriormente descritos a partir de los compuestos de **Vlc** o **Vld**, que comprende

20



(a) adición nucleófila con los aniones del 2-metil-3-butin-2-ol protegido que incorporan marcajes isotópicos en las posiciones 23,24,25,26 y 27 (posiciones F;G,K,M); 23,24 y 25 (posiciones F;G,K); 25,26 y 27 (posiciones K,M);o 23 y 24 (posiciones F;G),

25

(b) hidrogenación parcial del triple enlace a un alqueno cis,

(c) formación de un buen grupo saliente (se selecciona entre independientemente entre un grupo carbamato [-OC(O)NH-], un grupo dialquifosfato [-OP(O)(OR)₂] o un grupo éster [-OC(O)R],

30

(d) sustitución nucleófila bimolecular asistida por el doble enlace,

(e) desprotección, y

(f) oxidación,

donde R⁹ se selecciona entre trimetilsililo, trietilsililo, triisopropilsililo, terc-butildimetilsililo, terc-butildifenilsililo o terc-butildimetilsililo, acetato, benzoato, para-metoxibenzoato, pivalato.

5 En una realización particular, la reducción parcial del triple enlace se lleva a cabo en presencia de un catalizador metálico envenenado en atmosfera de hidrógeno o por transferencia de hidrógeno. En una realización particular el catalizador metálico se selecciona de entre catalizador de Lindlar, paladio sobre carbono, y el catalizador de Wilkinson.

10 Un experto en la materia puede seleccionar diferentes condiciones para la formación del carbamato de la etapa b). En una realización particular, se emplea isocianato de fenilo en disolución en piridina.

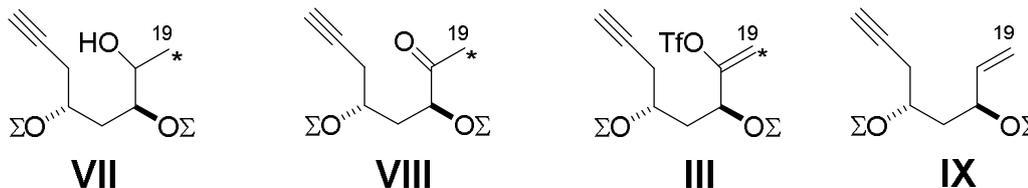
15 Un experto en la materia conoce la metodología para realizar sobre el carbamato una sustitución nucleófila bimolecular asistida por el doble enlace con estereoquímica sin mediante el empleo de cupratos (véase A. Mouriño y col., *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 1264-1269).

20 Un experto en la materia puede seleccionar diferentes condiciones para la desprotección de la etapa b), donde a partir del grupo –OR⁹ se obtiene un hidroxilo. Estas condiciones se seleccionan dependiendo del valor de R⁹, por ejemplo entre las condiciones descritas en Wuts, P. G. M., Greene, T. W.; “Protective Groups in Organic Synthesis”, 4rd Ed., John Wiley & Sons, Inc. 2007, New Jersey, páginas 24-222. Por ejemplo, en un caso en el que R⁹ sea un éster es posible llevar a cabo la desprotección mediante la reacción con hidruro de litio y aluminio, con hidruro de aluminio(III), con hidróxidos alcalinos y alcalinoterreos en THF/H₂O.

25 Un experto en la materia puede seleccionar diferentes condiciones para llevar a cabo la oxidación de la etapa c) según se describen en R.C. Larock. *Comprehensive Organic Transformations*. John Wiley & Sons, Inc. 2nd. edition, 1999, Nueva York, páginas 1234-1248. Por ejemplo es posible llevar a cabo la oxidación empleando un derivado de cromo, como por ejemplo dicromato de piridinio, clorocromato de piridinio, trióxido de cromo, ácido crómico; periodinano de Dess-Martin o perrutenato de tetrapropilamonio.

30 Un experto en la materia puede la preparación de los compuestos de formula **Vlc** y **Vlc** a partir de los compuestos **Vla** y **Vlb** (patente ES2396524, Intermedios versátiles y funcionalizados en la síntesis de vitamina D y nuevos derivados de vitamina D).

Los compuestos de fórmula **VII**, **VIII** y **III**, que incorporan el marcaje isotópico en C19,



en donde

* significa marcaje isotópico en la posición C19 (^{13}C , ^{11}C o ^{14}C -metileno ($=^{14}\text{CH}_2$),

Σ es un SiR_3 , $\text{SiR}_2\text{R}'$, siendo R y R' radicales alquilo o arilo, o un grupo metoximetilo.

- 5 Un experto en la materia conoce como preparar estos compuestos a partir del compuesto **IX** (descrito por B.M. Trost y col., *J. Am. Chem.Soc.* **1982**, 114, 9836-9845).

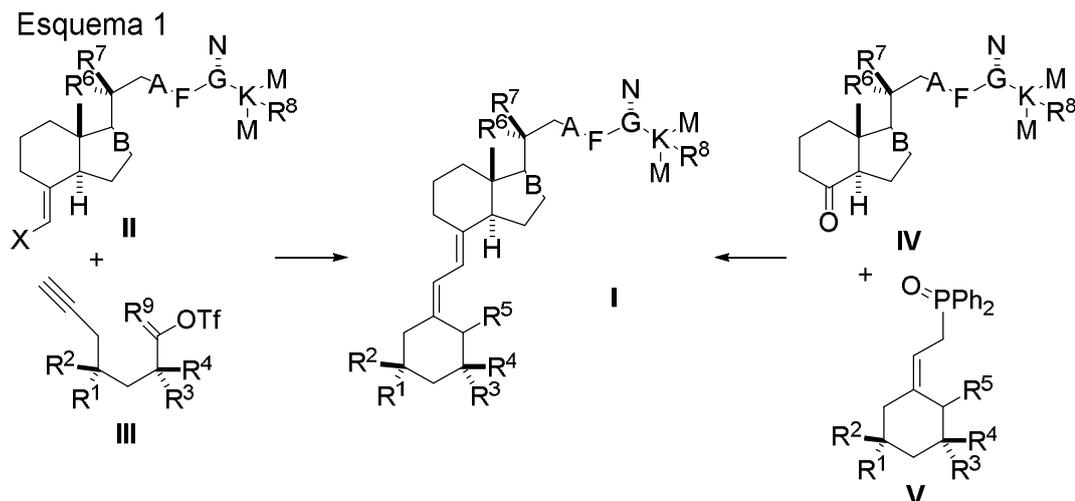
- 10 Un experto en la materia es capaz de sintetizar 2-metil-3-butin-2-ol protegidos que incorporan marcajes isotópicos en las posiciones 23,24,25,26 y 27 (formula I, posiciones F;G,K,M); 23,24 y 25 (formula I, posiciones F;G,K); 25,26 y 27 (formula I, posiciones K,M);o 23 y 24 (formula I, posiciones F;G) a partir de los siguientes compuestos comerciales: $^{13}\text{C}_3$ -propiolato de etilo, $^{13}\text{C}_3$ -acetona y $^{13}\text{C}_2$ -trimetilsililacetileno.

15

- Los compuestos de fórmula I son compuestos isotópicamente marcados derivados de las vitaminas D_2 y D_3 , útiles como patrones internos en métodos de cuantificación de vitamina D, de sus metabolitos y/o análogos por espectrometría de masas, como ligandos trazadores del receptor nuclear de la vitamina D para su estudio por RMN, como
- 20 herramientas para el estudio del metabolismo y y agentes en las técnicas de tomografía de emisión de positrones (PET).

Descripción detallada de la Invención

- 25 Los compuestos de fórmula I son preparados mediante una síntesis convergente a través de cualquiera de los dos procedimientos que se muestran en el esquema 1.



Los compuestos de fórmula I son preparados mediante el acoplamiento entre un compuesto de fórmula II y un compuesto de fórmula III, en presencia de un catalizador, en donde el acoplamiento se lleva a cabo en presencia de un catalizador seleccionado preferentemente entre tetra-*kis*-trifenilfosfina paladio(0), dicloruro de paladio(II) bis-trifenilfosfina, dicloruro de paladio(II) bis-(difenilfosfin)ferroceno, acetato de paladio(II), dicloruro de paladio(II) bis-acetonitrilo, tris(dibenzilidenacetona)dipaladio(0), acetilacetonato de níquel(II), o bis(1,5-diciclooctadienil) níquel(0), con un compuesto de fórmula III. Si es necesario se realiza la desprotección de los grupos protectores, de un modo particular con fluoruro de tetra-*n*-butilamonio en tetrahidrofurano a temperatura ambiente, con ácido fluorhídrico o con resina ácida de intercambio iónico AG W50 X4 en metanol desoxigenado.

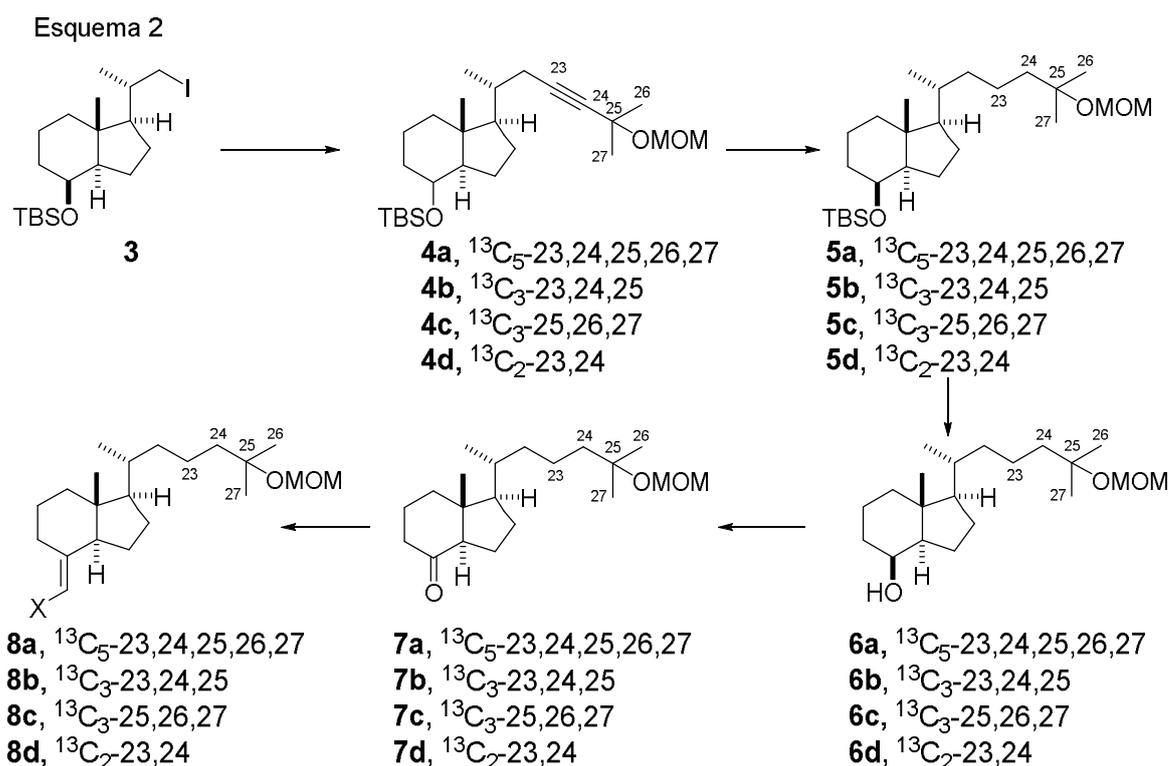
De un modo particular, este acoplamiento se puede llevar a cabo por reacción del anión del compuesto de fórmula V, que se prepara por reacción del compuesto de fórmula V con *n*-butil litio, di-*iso*-propilamido de litio, *terc*-butóxido de sodio, hexametildisilazano de potasio o hexametildisilazano de sodio a -78°C en tetrahidrofurano anhidro, con compuestos de fórmula IV. Si fuese necesario, es posible llevar a cabo la desprotección de los grupos protectores. Esta desprotección se realiza preferentemente con fluoruro de tetra-*n*-butilamonio en tetrahidrofurano a temperatura ambiente y con resina ácida de intercambio iónico AG W50 X4 en metanol desoxigenado.

Modo de realización particular de la invención

Los ejemplos y comentarios siguientes se facilitan para permitir a los expertos en la especialidad una comprensión más clara y para poner en práctica la invención. No deben ser considerados como limitativos del ámbito de la invención, sino ilustrativos y representativos de los mismos.

Los compuestos de fórmula **II** pueden ser preparados de un modo particular por una secuencia de reacciones a partir del compuesto de fórmula **3** ya conocido (Esquema 2). Los compuestos de fórmula **4** se obtienen sustitución nucleófila con los diferentes aniones del 2-metil-3-butin-2-ol protegido que incorporan marcajes isotópicos en las posiciones 23,24,25,26 y 27; 23,24 y 25; 25,26 y 27 o 23 y 24 (véase M. R. Uskokovic y col, *J. Org. Chem.* **1986**, 51, 3098-3108).

Los compuestos de fórmula **5** se preparan por hidrogenación del triple enlace por tratamiento con hidrógeno en presencia de Pd/C (10%) en metanol anhidro.



Los compuestos de fórmula **6** se preparan por reacción con fluoruro de tetra-*n*-butilamonio en tetrahidrofurano a temperatura ambiente.

Los compuestos de fórmula **7** se obtienen por oxidación (dicromato de piridinio, peryodinano de Dess-Martin, TEMPO) en diclorometano anhidro.

Los compuestos de fórmula **8** se preparan por una reacción de Wittig con el iluro de bromometiltrifenilfósforo, seguido por una reacción de Miyaura (intercambio Br/B catalizado por paladio), o por el método de Sato (véase F. Sato y col, *J. Org. Chem.* **2003**, 68, 9767-9772).

De modo particular, los compuestos de fórmula **12** se obtienen a partir de compuestos **5** (Esquema 3). Los compuestos de fórmula **9** se preparan por una reacción de desprotección selectiva del metoximetiléter.

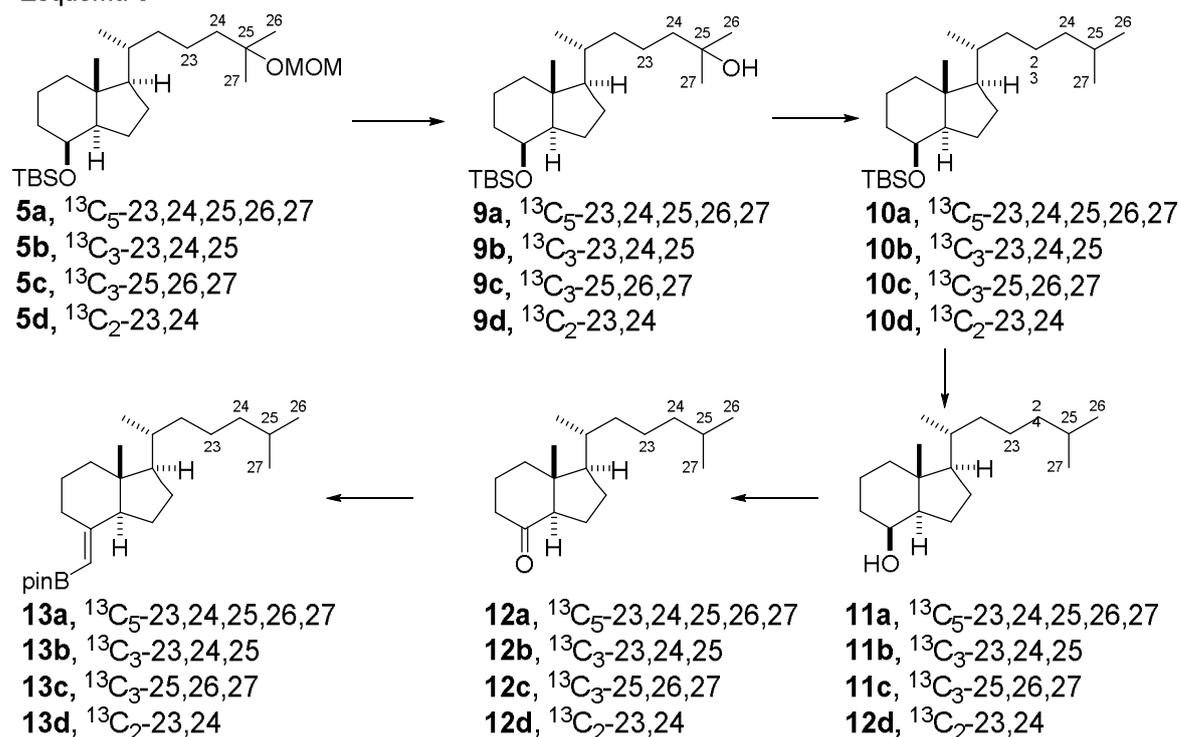
Los compuestos de fórmula **10** se preparan por una reacción de desoxigenación del grupo hidroxilo por formación de un xantato y posterior reacción con hidruro de

tributilestaño o por deshidratación seguida de hidrogenación catalítica (véase A. Mouriño y col, *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 3314-3320).

Los compuestos de fórmula **11** se preparan por reacción con fluoruro de tetra-*n*-butilamonio en tetrahidrofurano a temperatura ambiente, con ácido fluorhídrico o con resina ácida de intercambio iónico AG W50 X4 en metanol desoxigenado.

Los compuestos de fórmula **12** se obtienen por oxidación con dicromato de piridinio en diclorometano anhidro.

Esquema 3



Alternativamente los compuestos de fórmula **11** pueden ser preparados de un modo particular por una secuencia de reacciones a partir del compuesto de fórmula **14** ya conocido (Esquema 4).

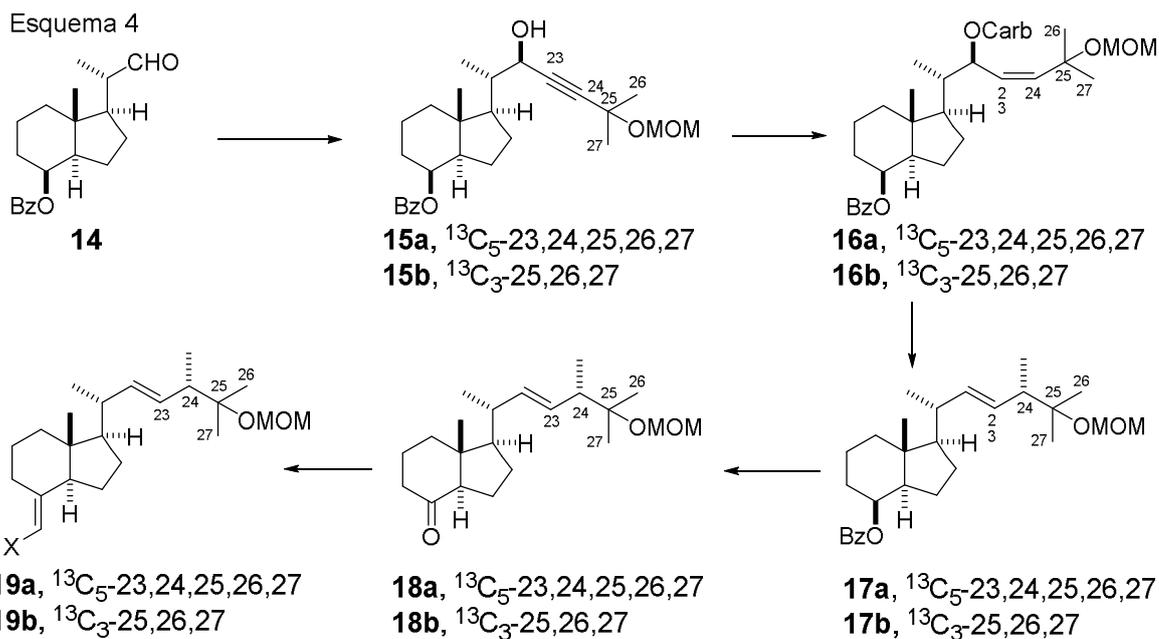
Los compuestos de fórmula **15** se preparan por adición estereoselectiva con los diferentes aniones del 2-metil-3-butin-2-ol protegido que incorporan marcajes isotópicos en las posiciones 23,24,25,26 y 27 y 25,26 y 27.

Los compuestos de fórmula **16** se obtienen por hidrogenación parcial del triple enlace por tratamiento con hidrógeno y el catalizador de Lindlar (10% Pd sobre BaSO_4 , quinolina) en metanol anhidro, y posterior reacción de los alcoholes alílicos preparados con isocianato de fenilo en piridina anhidra.

Los compuestos de fórmula **17** se preparan por reacción de sustitución con cupratos de metilo.

Los compuestos de fórmula **18** se obtienen por reacción con hidruro de litio y aluminio en tetrahidrofurano anhidro, seguida de la oxidación de los alcoholes resultantes con dicromato de piridinio en diclorometano anhidro.

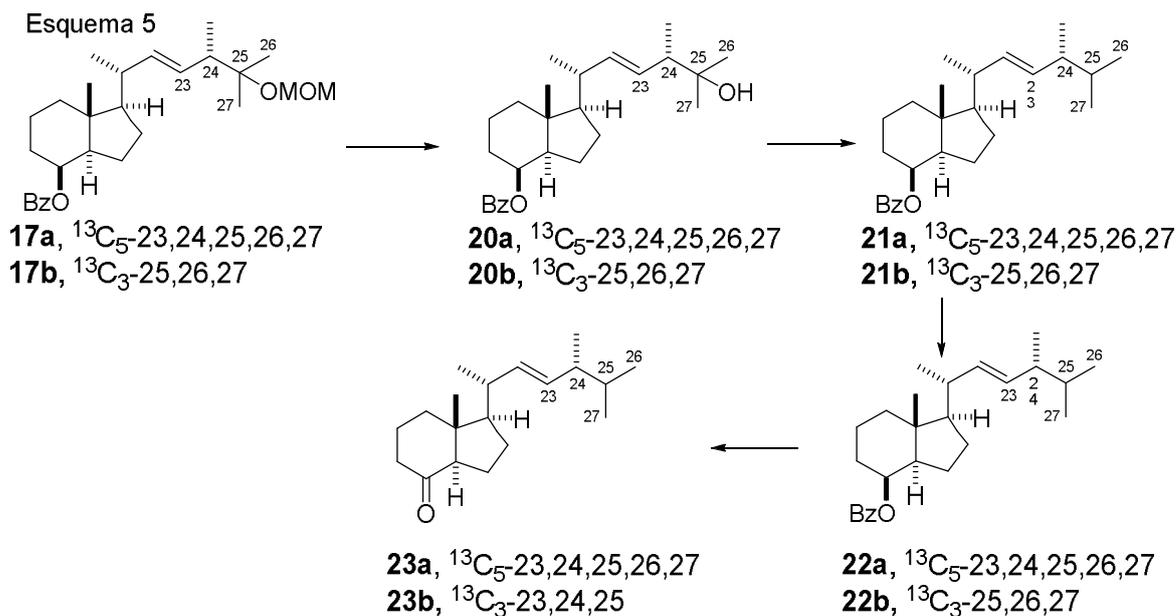
Los compuestos de fórmula **19** se preparan por una reacción de Wittig con el iluro de bromometiltrifenilfósforo, seguido por una reacción de Miyaura (intercambio Br/B catalizado por paladio), o por el método de Sato (véase F. Sato y col, *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 9767-9772).



De modo particular, los compuestos de fórmula **23** se obtienen a partir de compuestos **17** (Esquema 5). Los compuestos de fórmula **20** se preparan por una reacción de desprotección selectiva del metoximetiléter.

Los compuestos de fórmula **21** se preparan por formación de un xantato y posterior reacción con hidruro de tributilestano o por deshidratación seguida de hidrogenación catalítica (véase A. Mouriño y col, *Chem. Eur. J.* **2018**, *24*, 3314-3320). Los compuestos de fórmula **22** se preparan por reacción con fluoruro de tetra-*n*-butilamonio en tetrahidrofurano a temperatura ambiente.

Los compuestos de fórmula **23** se obtienen por oxidación (dicromato de piridinio, peryodinano de Dess-Martin, TEMPO) en diclorometano anhidro.



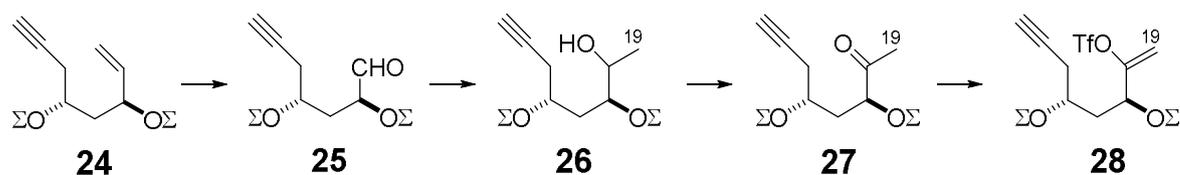
Como se muestra en el esquema 1, los compuestos de fórmula **III** correspondientes a los anillos A son preparados por una secuencia de reacciones a partir del compuesto de fórmula **24**, que ya es conocido (Esquema 6). El compuesto de fórmula **25** se obtiene por epoxidación del doble enlace con ácido *meta*-cloroperbenzoico, seguido de la rotura oxidativa del epóxido con ácido peryódico.

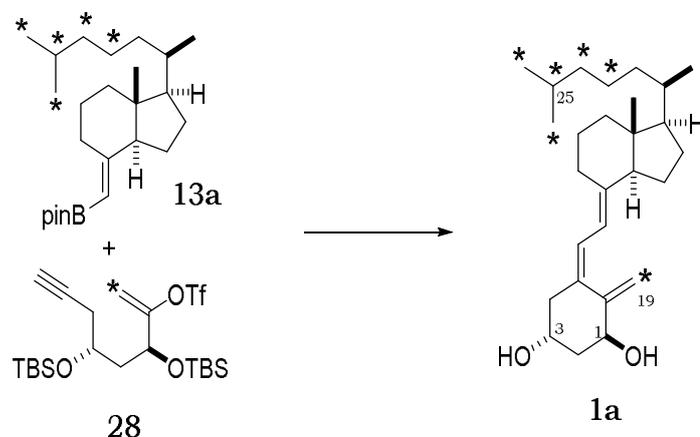
El compuesto de fórmula **26** se obtiene por reacción con el organolítico sustituido con isótopos (^{13}C , ^{11}C , ^{14}C o $^{13}\text{C}\text{-}^2\text{H}$) obtenido por metalación de los correspondientes yoduros de ^{13}C -metilo ($^{13}\text{CH}_3\text{I}$), de ^{13}C -trideuterometilo ($^{13}\text{CD}_3\text{I}$), de ^{11}C -metilo ($^{11}\text{CH}_3\text{I}$), o ^{14}C -metilo ($^{14}\text{CH}_3\text{I}$) en éter etílico a baja temperatura.

El compuesto de fórmula **27** se prepara por oxidación (dicromato de piridinio, peryodiano de Dess-Martin, TEMPO) en diclorometano anhidro.

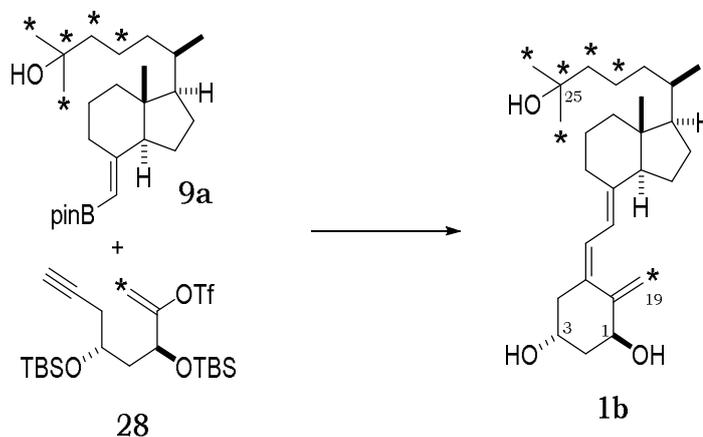
El compuesto de fórmula **28** se prepara por tratamiento con una base (di-*iso*-propilamiduro de litio, hexametildisilazano de litio, *terc*-butóxido de potasio) en THF anhidro seguido de atrapado del enolato con *N*-(5-cloro-2-piridil)triflimida.

Esquema 6



Ejemplo 119,23,24,25,26,27-¹³C₆-1 α -Hidroxivitamina D₃ (**1a**)

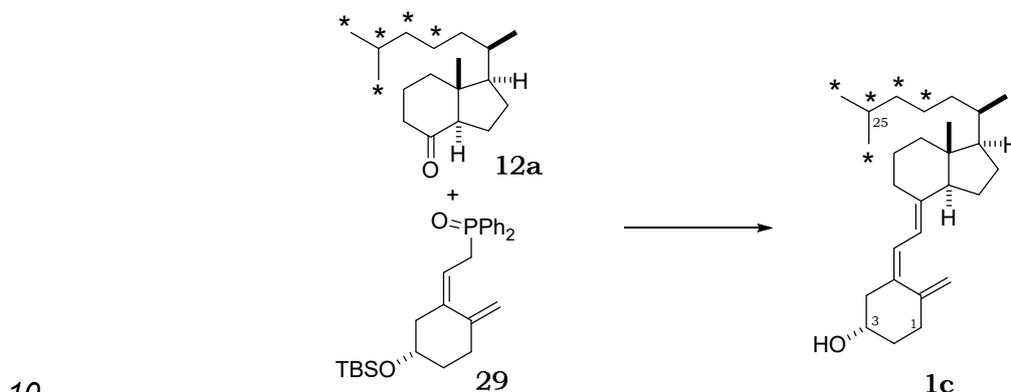
Una disolución acuosa de K₃PO₄ (3 mL, 2M) y PdCl₂(PPh₃)₂ (3 mg, 0.00039 mmol) se añadieron sobre una disolución de **13a** (43 mg, 0.0102 mmol) y **28** (58 mg, 0.11 mmol) en THF (4 mL). La mezcla se agitó vigorosamente. La reacción se detuvo por adición de agua. La mezcla se extrajo con MTBE. La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por cromatografía rápida en columna. El residuo se disolvió en THF (6 mL). Se añadió una disolución de TBAF en THF (0.30 mL). La mezcla se agitó durante 48 h. Se añadió una disolución saturada de NH₄Cl. La mezcla se extrajo con Et₂O. La fase orgánica combinada se secó, filtró y concentró. El residuo se purificó por HPLC Phenomenex Luna 5 μ silica, 20% ⁱPrOH/hexanos, tr = 13.5 min para dar **1a** [28 mg, 69% (2 pasos), espuma blanca]. ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.34 (d, *J* = 11.2 Hz, 1H, H-6), 5.99 (d, *J* = 11.3 Hz, 1H, H-7), 5.27 (d, *J* = 158.9 Hz, 1H, H-19), 4.98 (d, *J* = 160.7 Hz, 1H, H-19), 3.90 (tt, *J* = 6.8, 3.5 Hz, 1H, H-3), 1.02 (dd, *J* = 7.4, 3.6 Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.90 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, Me-21), 0.51 (s, 3H, Me-18).

Ejemplo 219,23,24,25,26,27-¹³C₆-1 α ,25-Dihidroxivitamina D₃ (**1b**)

5 Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 1, una disolución acuosa de K_3PO_4 (2 mL, 2M), $PdCl_2(PPh_3)_2$ (2 mg, 0.00026 mmol) **9a** (22 mg, 0.052 mmol) y **28** (30 mg, 0.058 mmol) proporcionaron **1b** [17 mg, 78% (2 pasos), espuma blanca]. 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 6.35 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H, H-6), 5.98 (d, $J = 11.3$ Hz, 1H, H-7), 5.29 (d, $J = 158.9$ Hz, 1H, H-19), 4.97 (d, $J = 160.7$ Hz, 1H, H-19), 4.40 (dt, $J = 7.6, 3.6$ Hz, 1H, H-1), 4.20 (tt, $J = 6.8, 3.5$ Hz, 1H, H-3), 1.24 (dd, $J = 7.4, 3.6$ Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.91 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, Me-21), 0.52 (s, 3H, Me-18).

Ejemplo 3

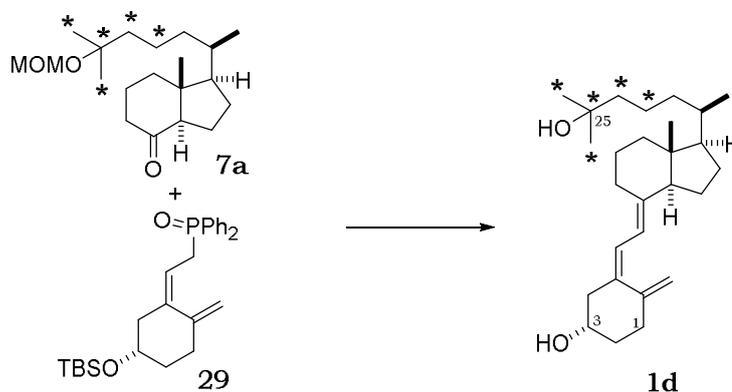
23,24,25,26,27- $^{13}C_5$ -Vitamina D₃ (**1c**)



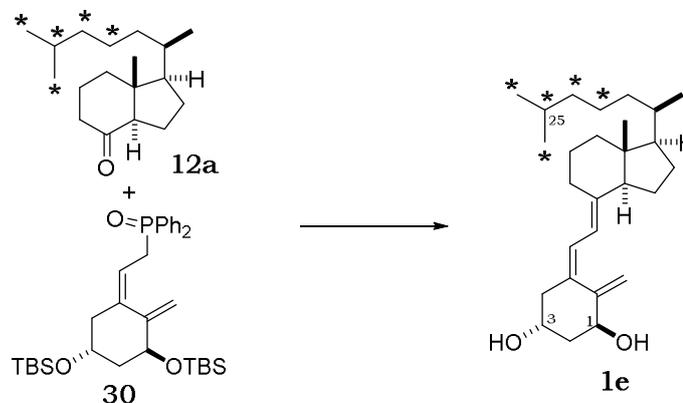
15 A una disolución de 1.23 mmoles del óxido de fosfina **29** en 10 mL de tetrahidrofurano anhidro enfriada a -78 °C se añaden 1.23 mmoles de *n*-butil litio 1.5 M en hexano gota a gota bajo atmósfera de argón. Después de agitar 30 minutos, se añade gota a gota, una disolución de 0.15 mmoles de la cetona **12a** en 6 mL de tetrahidrofurano anhidro durante un periodo de 30 minutos. A continuación se agita la mezcla de reacción a -78 °C durante 2 horas. La reacción se detiene por adición de una disolución acuosa de cloruro sódico y la mezcla resultante se deja alcanzar temperatura ambiente. El aislamiento del compuesto del título puede hacerse por extracción con acetato de etilo y la purificación mediante cromatografía rápida en columna de gel de sílice. La eliminación del grupo protector de silicio puede efectuarse mediante el tratamiento de una disolución del compuesto del título sililado en 2 mL de metanol desoxigenado y anhidro, con 500 mg de resina DOWEX AG 50W-X4 bajo atmósfera de argón y agitando en la oscuridad a temperatura ambiente durante 24 horas. Esta mezcla de reacción se detiene mediante la adición de una disolución acuosa de cloruro sódico y el compuesto del título se aísla por extracción con acetato de etilo y se purifica por cromatografía rápida en columna de gel de sílice para dar **1c** (89% de rendimiento). 1H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 6.22 (d, $J = 11$ Hz, 1H, H-6), 5.99 (d, $J = 11$ Hz, 1H, H-7), 5.21 (br s, 1H, H-19), 4.98 (br s, 1H, H-19), 4.39 (d, $J = 3.6$ Hz, 1H, H-1), 4.18 (t, $J = 3.5$ Hz, 1H, H-3), 1.03 (dd, $J = 7.4, 3.6$ Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.90 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, Me-21), 0.51 (s, 3H, Me-18).

20

25

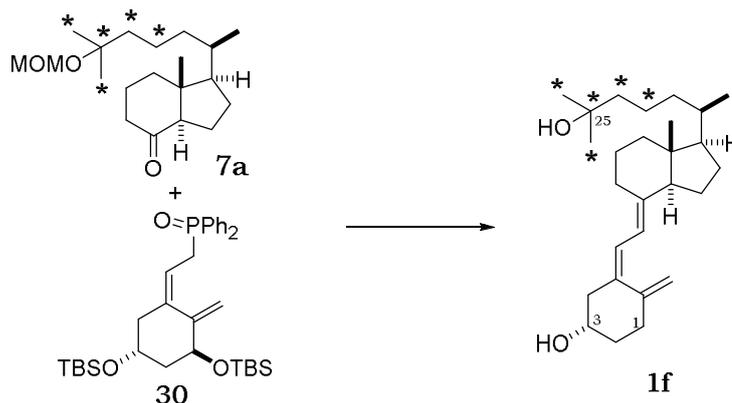
Ejemplo 423,24,25,26,27-¹³C₅-25-Hidroxitamina D₃ (**1d**)

5 Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 3, 2.45 mmoles del óxido de fosfina **29** en 15 mL de tetrahidrofurano, 2.45 mmoles de *n*-butil litio 1.5 M, 0.61 mmoles de la cetona **7a** en 8 mL de tetrahidrofurano proporcionaron **1d** (90% de rendimiento, dos pasos). ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 6.32 (d, *J* = 11 Hz, 1H, H-6), 5.98 (d, *J* = 11 Hz, 1H, H-7), 5.27 (br s, 1H, H-19), 4.98 (br s, 1H, H-19), 3.91 (tt, *J* = 6.8, 3.5 Hz, 1H, H-3), 1.21 (d, *J* = 7.4 Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.92 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, Me-21), 0.52 (s, 3H, Me-18).

10 Ejemplo 523,24,25,26,27-¹³C₅-1 α -Hidroxitamina D₃ (**1e**)

15 Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 3, 0.31 mmoles del óxido de fosfina **30** en 8 mL de tetrahidrofurano, 0.30 mmoles de *n*-butil litio 1.5 M, 0.20 mmoles de la cetona **12a** en 6 mL de tetrahidrofurano proporcionaron **1e** (86% de rendimiento, dos pasos). ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 6.32 (d, *J* = 11 Hz, 1H, H-6), 5.98 (d, *J* = 11 Hz, 1H, H-7), 5.24 (br s, 1H, H-19), 4.96 (br s, 1H, H-19), 3.91 (tt, *J* = 6.8, 3.5 Hz, 1H, H-3), 1.02 (d, *J* = 7.4 Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.90 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, Me-21), 0.51 (s, 3H, Me-18).

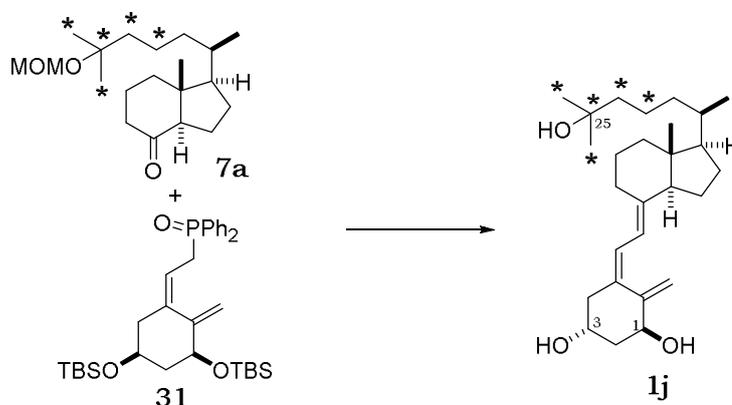
Ejemplo 620 23,24,25,26,27-¹³C₅-1 α ,25-Dihidroxitamina D₃ (**1f**)



5 Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 3, 1.2 mmoles del óxido de fosfina **30** en 15 mL de tetrahidrofurano, 1.15 mmoles de *n*-butil litio 1.5 M, 0.85 mmoles de la cetona **7a** en 12 mL de tetrahidrofurano proporcionaron **1f** (90% de rendimiento, dos pasos). ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 6.32 (d, *J* = 11 Hz, 1H, H-6), 5.98 (d, *J* = 11 Hz, 1H, H-7), 5.27 (br s, 1H, H-19), 4.98 (br s, 1H, H-19), 4.37 (d, *J* = 3.6 Hz, 1H, H-1), 4.20 (t, *J* = 3.5 Hz, 1H, H-3), 1.22 (d, *J* = 7.4 Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.93 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, Me-21), 0.53 (s, 3H, Me-18).

Ejemplo 7

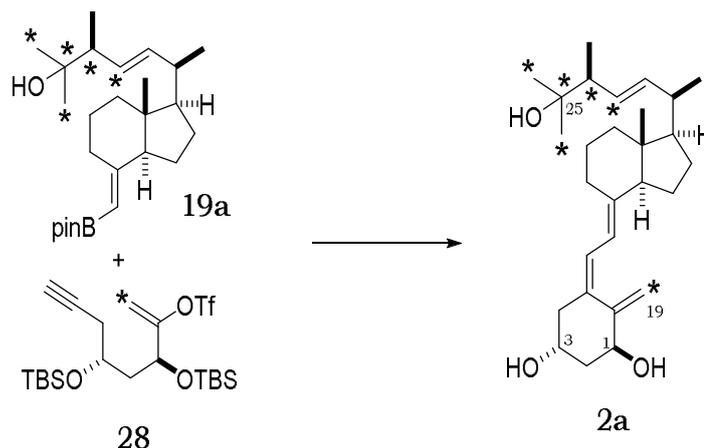
10 23,24,25,26,27-¹³C₅-3-epi-1 α ,25-Dihidroxitamina D₃ (**1g**)



15 Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 3, 1.22 mmoles del óxido de fosfina **31** en 20 mL de tetrahidrofurano, 1.20 mmoles de *n*-butil litio 1.5 M, 0.81 mmoles de la cetona **7a** en 15 mL de tetrahidrofurano proporcionaron **1j** (88% de rendimiento, dos pasos). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 6.43 (d, *J* = 11 Hz, 1H, H-6), 6.02 (d, *J* = 11 Hz, 1H, H-7), 5.29 (br s, 1H, H-19), 5.00 (br s, 1H, H-19), 4.31 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H, H-1), 4.05 (m, 1H, H-3), 1.21 (d, *J* = 7.4 Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.94 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, Me-21), 0.54 (s, 3H, Me-18).

Ejemplo 8

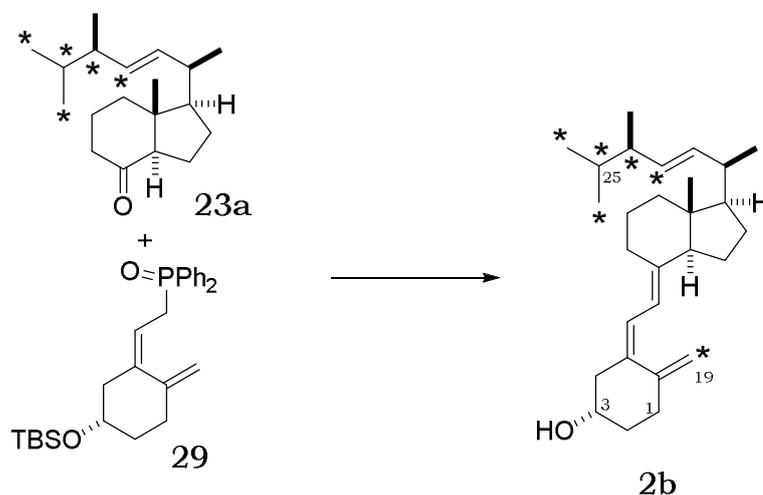
20 19,23,24,25,26,27-¹³C₆-1 α ,25-Dihidroxitamina D₂ (**2a**)



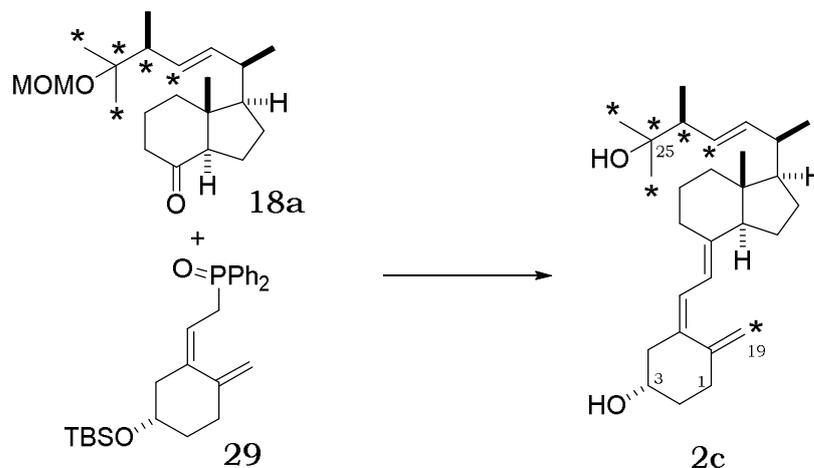
5 Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 1, una disolución acuosa de K_3PO_4 (3 mL, 2M) y $PdCl_2(PPh_3)_2$ (3 mg, 0.00039 mmol), una disolución de **19a** (34 mg, 0.078 mmol) y **28** (45 mg, 0.088 mmol) en THF (4 mL) proporcionaron **2a** [26 mg, 79% (2 pasos), espuma blanca]. 1H NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 6.34 (d, $J = 11.2$ Hz, 1H, H-6), 6.01 (d, $J = 11.3$ Hz, 1H, H-7), 5.35 (m, 2H, H-22, H-23), 5.28 (d, $J = 158.9$ Hz, 1H, H-19), 4.96 (d, $J = 160.7$ Hz, 1H, H-19), 4.37 (dt, $J = 7.6, 3.6$ Hz, 1H, H-1), 4.18 (tt, $J = 6.8, 3.5$ Hz, 1H, H-3), 1.17 (s, 3H, Me-26 o Me-27), 1.13 (s, 3H, Me-27 o Me-26), 1.03 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, Me-21), 0.98 (dd, $J = 6.2, 2.2$ Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.55 (s, 3H, Me-18).

10 Ejemplo 9

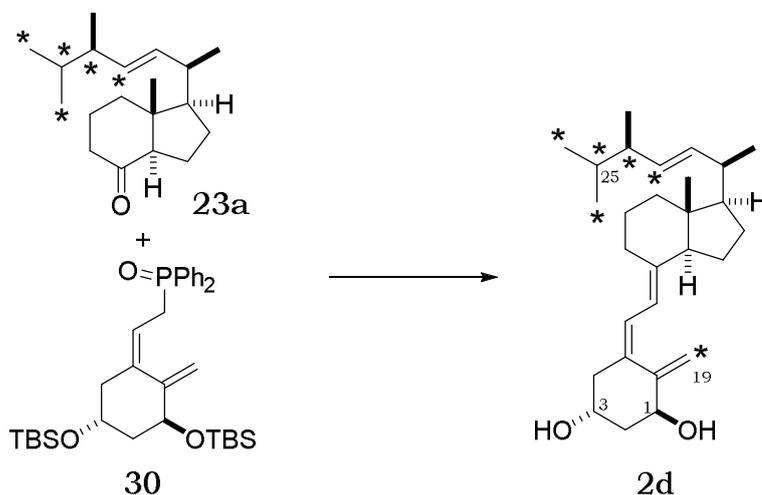
23,24,25,26,27- $^{13}C_5$ -Vitamina D₂ (**2b**)



15 Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 3, 0.22 mmoles del óxido de fosfina **29** en 5 mL de tetrahidrofurano, 0.21 mmoles de *n*-butil litio 1.5 M, 0.21 mmoles de la cetona **23a** en 5 mL de tetrahidrofurano proporcionaron **2b** (89% de rendimiento, dos pasos). 1H NMR (250 MHz, $CDCl_3$) δ 6.30 (d, $J = 11$ Hz, 1H, H-6), 5.96 (d, $J = 11$ Hz, 1H, H-7), 5.35 (m, 2H, H-22, H-23), 5.21 (br s, 1H, H-19), 4.97 (br s, 1H, H-19), 3.91 (tt, $J = 6.8, 3.5$ Hz, 1H, H-3), 0.96 (dd, $J = 7.4, 2.4$ Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.92 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, Me-28), 0.89 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, Me-21), 0.52 (s, 3H, Me-18).

Ejemplo 1023,24,25,26,27-¹³C₅-25-Hidroxitamina D₂ (**2c**)

5 Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 3, 1.2 mmoles del óxido de fosfina **29** en 15 mL de tetrahidrofurano, 1.15 mmoles de *n*-butil litio 1.5 M, 0.85 mmoles de la cetona **18a** en 15 mL de tetrahidrofurano proporcionaron **2c** (89% de rendimiento, dos pasos). ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 6.30 (d, *J* = 11 Hz, 1H, H-6), 5.96 (d, *J* = 11 Hz, 1H, H-7), 5.35 (m, 2H, H-22, H-23), 5.21 (br s, 1H, H-19), 4.97 (br s, 1H, H-19), 3.91 (tt, *J* = 6.8, 3.5 Hz, 1H, H-3), 0.96 (dd, *J* = 7.4, 2.4 Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.92 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, Me-28), 0.89 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, Me-21), 0.52 (s, 3H, Me-18).

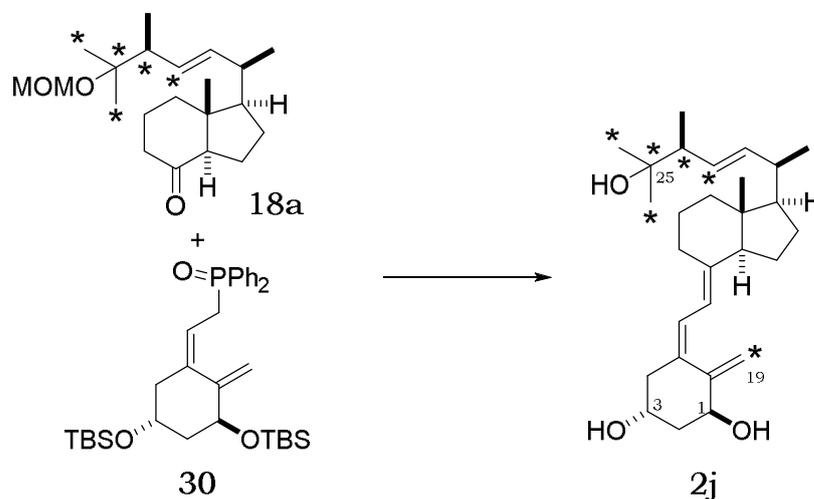
Ejemplo 1123,24,25,26,27-¹³C₅-1 α -Hidroxitamina D₂ (**2d**)

15 Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 3, 1.1 mmoles del óxido de fosfina **30** en 15 mL de tetrahidrofurano, 1.05 mmoles de *n*-butil litio 1.5 M, 0.75 mmoles de la cetona **23a** en 10 mL de tetrahidrofurano proporcionaron **2d** (92% de rendimiento, dos pasos). ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 6.33 (d, *J* = 11 Hz, 1H, H-6), 5.98 (d, *J* = 11 Hz, 1H, H-7), 5.35 (m, 2H, H-22, H-23), 5.21 (br s, 1H, H-19), 4.97 (br s, 1H, H-19), 4.34 (dt, *J* = 7.6, 3.6 Hz, 1H, H-1), 3.89 (tt, *J* = 6.8, 3.5 Hz, 1H, H-3), 0.96 (dd, *J* = 7.4, 2.4 Hz, 6H, Me-

26, Me-27), 0.92 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, Me-28), 0.89 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, Me-21), 0.52 (s, 3H, Me-18).

Ejemplo 12

23,24,25,26,27- $^{13}\text{C}_5$ -1 α ,25-Dihidroxitamina D₂ (**2e**)



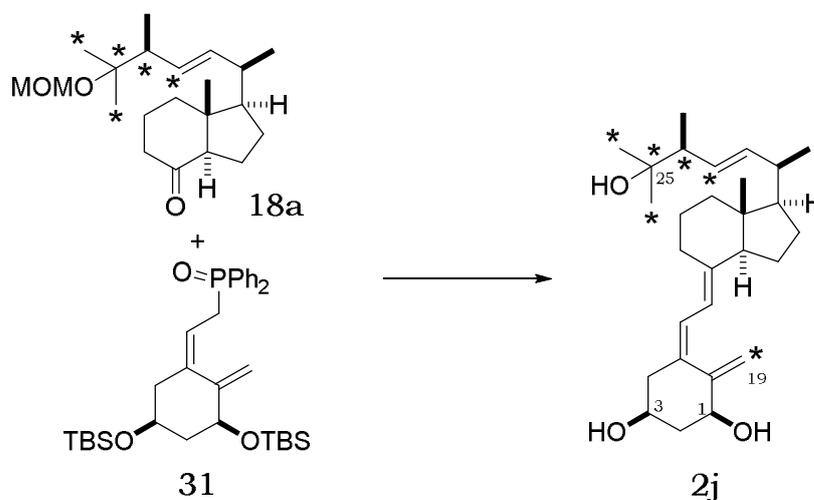
5

Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 3, 1.1 mmoles del óxido de fosfina **30** en 15 mL de tetrahidrofurano, 1.05 mmoles de *n*-butil litio 1.5 M, 0.75 mmoles de la cetona **18a** en 10 mL de tetrahidrofurano proporcionaron **2e** (93% de rendimiento, dos pasos). $^1\text{H NMR}$ (250 MHz, CDCl_3) δ 6.30 (d, $J = 11$ Hz, 1H, H-6), 5.96 (d, $J = 11$ Hz, 1H, H-7), 5.35 (m, 2H, H-22, H-23), 5.21 (br s, 1H, H-19), 4.97 (br s, 1H, H-19), 4.34 (dt, $J = 7.6, 3.6$ Hz, 1H, H-1), 3.91 (tt, $J = 6.8, 3.5$ Hz, 1H, H-3), 0.96 (dd, $J = 7.4, 2.4$ Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.92 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, Me-28), 0.89 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H, Me-21), 0.52 (s, 3H, Me-18).

10

Ejemplo 13

15 23,24,25,26,27- $^{13}\text{C}_5$ -3-epi-1 α ,25-Dihidroxitamina D₂ (**2f**)

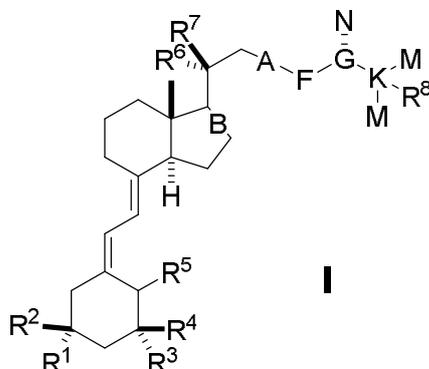


Siguiendo el procedimiento descrito en el ejemplo 3, 1.02 mmoles del óxido de fosfina **31** en 12 mL de tetrahidrofurano, 0.96 mmoles de *n*-butil litio 1.5 M, 0.71 mmoles de la

cetona **7a** en 12 mL de tetrahidrofurano proporcionaron **2j** (86% de rendimiento, dos pasos). ¹H NMR (250 MHz, CDCl₃) δ 6.43 (d, *J* = 11 Hz, 1H, H-6), 6.02 (d, *J* = 11 Hz, 1H, H-7), 5.35 (m, 2H, H-22, H-23), 5.21 (br s, 1H, H-19), 5.00 (br s, 1H, H-19), 4.31 (d, *J* = 4.5 Hz, 1H, H-1), 4.05 (m, 1H, H-3), 1.21 (d, *J* = 7.4 Hz, 6H, Me-26, Me-27), 0.94 (d, *J* = 6.5 Hz, 3H, Me-21), 0.54 (s, 3H, Me-18).

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula I:



5 en donde

A es un enlace sencillo, doble o triple,

B es un enlace sencillo o doble,

F se selecciona entre metileno (CH_2), ^{13}C -metileno ($^{13}\text{CH}_2$), ^{11}C -metileno ($^{11}\text{CH}_2$), y ^{14}C -metileno ($^{14}\text{CH}_2$),

10 G se selecciona entre se selecciona entre metileno (CH_2), ^{13}C -metileno ($^{13}\text{CH}_2$), ^{11}C -metileno ($^{11}\text{CH}_2$), y ^{14}C -metileno ($^{14}\text{CH}_2$) cuando N es hidrógeno, y se selecciona entre $-\text{CH}-$, $^{-13}\text{CH}_2-$, $^{-11}\text{CH}_2-$, y $^{-14}\text{CH}_2$ cuando N no es hidrógeno,-

K se selecciona entre $-\text{C}-$, $^{-13}\text{C}-$, $^{-11}\text{C}-$ y $^{-13}\text{C}-$,

M es un grupo metilo, metilo- ^{13}C , trideuterometilo- ^{13}C , metilo- ^{11}C , metilo- ^{14}C , etilo

15 N es un hidrógeno, metilo, hidroxilo ó $-\text{OR}$, en donde R se selecciona entre los grupos metoximetilo, metoxietilo, trimetilsililetoximetilo, trimetilsililo, trietilsililo, *t*-butildimetilsililo, tri-*iso*-propilsililo, *t*-butildifenilsililo, dimetilfenilsililo, dimetilbencilsililo, benzoato, *p*-nitrobenzoato, pivalato o acetato,

20 R^1 , R^2 , R^3 y R^4 se seleccionan independientemente entre hidrógeno, hidroxilo ó $-\text{OR}$, en donde R se selecciona entre los grupos metoximetilo, metoxietilo, trimetilsililetoximetilo, trimetilsililo, trietilsililo, *t*-butildimetilsililo, tri-*iso*-propilsililo, *t*-butildifenilsililo, dimetilfenilsililo, dimetilbencilsililo, benzoato, *p*-nitrobenzoato, pivalato o acetato,

25 R^5 se seleccionan independientemente entre hidrógeno, grupo metileno ($=\text{CH}_2$), grupo dideuterometileno ($=\text{CD}_2$), grupo metileno- ^{13}C ($=^{13}\text{CH}_2$), grupo dideuterometileno- ^{13}C ($=^{13}\text{CD}_2$), grupo metileno- ^{11}C ($=^{11}\text{CH}_2$) o grupo metileno- ^{14}C ($=^{14}\text{CH}_2$),

R^6 y R^7 se seleccionan independientemente entre hidrógeno ó -metilo,

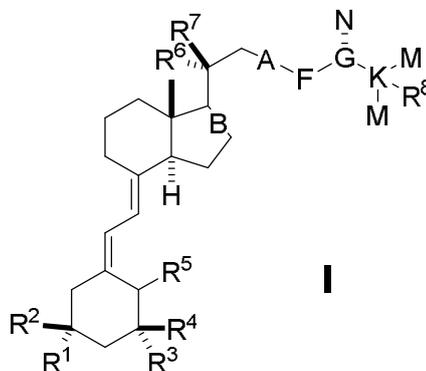
R^8 se seleccionan independientemente entre hidrógeno, hidroxilo ó $-\text{OR}$, en donde R se selecciona entre los grupos metoximetilo, metoxietilo, trimetilsililetoximetilo,

trimetilsililo, trietilsililo, *t*-butildimetilsililo, tri-*iso*-propilsililo, *t*-butildifenilsililo, dimetilfenilsililo, dimetilbencilsililo, benzoato, *p*-nitrobenzoato, pivalato o acetato.

2. Un compuesto de fórmula I, seleccionado entre
- 5 19,23,24,25,26,27-¹³C₆-1 α -hidroxivitamina D₃ (**1a**),
 19,23,24,25,26,27-¹³C₆-1 α ,25-dihidroxivitamina D₃ (**1b**),
 23,24,25,26,27-¹³C₅-vitamina D₃ (**1c**),
 23,24,25,26,27-¹³C₅-25-hidroxivitamina D₃ (**1d**),
 23,24,25,26,27-¹³C₅-1 α -hidroxivitamina D₃ (**1e**),
 10 23,24,25,26,27-¹³C₅-1 α ,25-dihidroxivitamina D₃ (**1f**),
 23,24,25,26,27-¹³C₅-3-*epi*-1 α ,25-dihidroxivitamina D₃ (**1g**),
 19,23,24,25,26,27-¹³C₆-1 α ,25-dihidroxivitamina D₂ (**2a**),
 23,24,25,26,27-¹³C₅-vitamina D₂ (**2b**),
 23,24,25,26,27-¹³C₅-25-hidroxivitamina D₂ (**2c**),
 15 23,24,25,26,27-¹³C₅-1 α -hidroxivitamina D₂ (**2d**),
 23,24,25,26,27-¹³C₅-1 α ,25-dihidroxivitamina D₂ (**2e**),
 23,24,25,26,27-¹³C₅-3-*epi*-1 α ,25-dihidroxivitamina D₂ (**2f**).

3. Un procedimiento para la preparación de los compuestos de fórmula I,

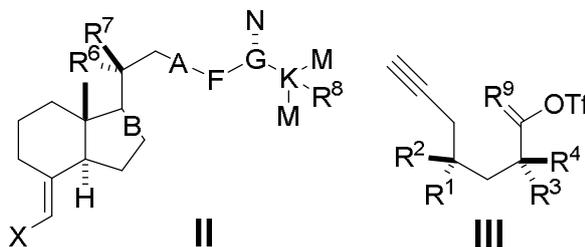
20



en donde A, B, F, G, K, M, N, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ and R⁸ se seleccionan como en la reivindicación 1,

que comprende un acoplamiento de los compuestos II y III en presencia de un catalizador,

25



26

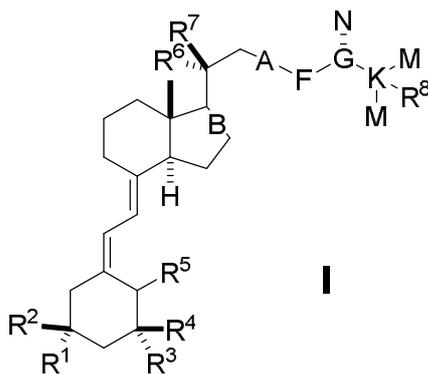
donde A, B, F, G, K, M, N, R¹, R², R³, R⁴, R⁶, R⁷ and R⁸ se seleccionan como en la reivindicación 1,

R⁹ se seleccionan independientemente entre metileno (=CH₂), dideuterometileno (=CD₂), ¹³C-metileno- (¹³CH₂), ¹³C-dideuterometileno (= ¹³CD₂), ¹¹C-metileno (= ¹¹CH₂) o ¹⁴C-metileno (= ¹⁴CH₂),

X es bicloruro de indio (-InCl₂), bromuro de cinc (-ZnBr) o dialcoxiboro [-B(OR)₂], y

4. Procedimiento según la reivindicación 3, donde el catalizador empleado se selecciona preferentemente entre tetra-*kis*-trifenilfosfina paladio(0), dicloruro de paladio(II) bis-trifenilfosfina, dicloruro de paladio(II) bis-(difenilfosfin)ferroceno, acetato de paladio(II), dicloruro de paladio(II)bis-acetonitrilo, tris(dibenzilidenacetona)dipaladio(0), acetilacetonato de níquel(II) o bis(1,5-diciclooctadienil) níquel(0).

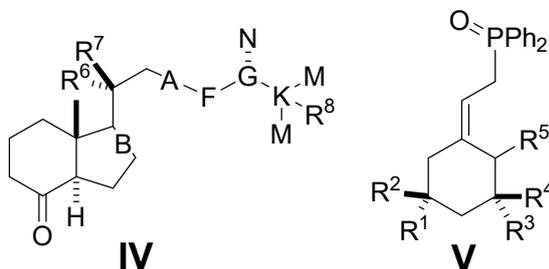
5. Un procedimiento para la preparación de los compuestos de fórmula I,



15

en donde A, B, M, N, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ and R⁸ se seleccionan como en la reivindicación 1,

que comprende una reacción de Wittig-Horner entre los compuestos IV y V en presencia de una base,

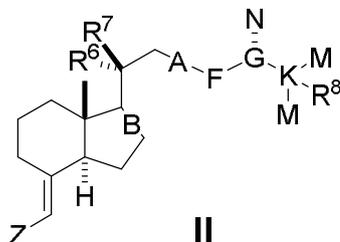


20

en donde A, B, M, N, R¹, R², R³, R⁴, R⁵, R⁶, R⁷ and R⁸ se seleccionan como en la reivindicación.

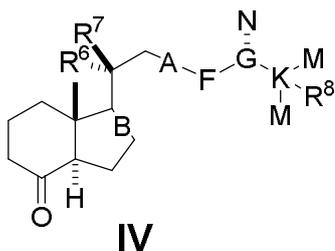
6. Un procedimiento según la reivindicación 5, que se caracteriza porque la base empleada se selecciona preferentemente entre *n*-butil litio, *t*-butóxido potásico, hidruro sódico o amiduro sódico.

- 5 7. Los compuestos de fórmula II,



en donde R^6 , R^7 and R^8 se seleccionan como en la reivindicación 1,
X es bicloruro de indio ($-InCl_2$), bromuro de cinc ($-ZnBr$) o dialcoxiboro [$-B(OR)_2$]

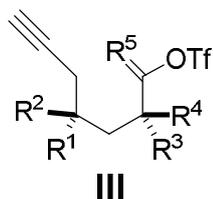
- 10 8. Los compuestos de fórmula IV,



en donde R^6 , R^7 and R^8 se seleccionan como en la reivindicación 1,

9. Los compuestos de fórmula III,

15



en donde R^1 , R^2 , R^3 , R^4 and R^5 se seleccionan como en la reivindicación 1.

10. Uso de los compuestos de fórmula I, según la reivindicación 1, en métodos de
20 cuantificación de la vitamina D, sus metabolitos y/o análogos por espectrometría de masas.

11. Uso de los compuestos de fórmula I, según la reivindicación 1, en métodos de identificación y cuantificación de la vitamina D, sus metabolitos y/o análogos por resonancia magnética nuclear.
- 5 12. Uso de los compuestos de fórmula I, según la reivindicación 1, en las técnicas de tomografía de emisión de positrones como trazador.



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

21 N.º solicitud: 201830881

22 Fecha de presentación de la solicitud: 12.09.2018

32 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

51 Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	56 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	LANDVATTER, S.W. & TYBURSKI, R. "Comparison of Deuterium, ¹³ C and ¹⁵ N Isotopic Labels in Mass Spec Internal Standards". Stable Isotope Labeled Standards. IsoSciences. 2015. [Recuperado el 29.04.2019]. Recuperado de URL: < https://isosciences.com/wp-content/uploads/2017/05/isosciences-isotope-label-standard-brochure.pdf >. Ver página 3125, resumen; página 3125, esquema 3.	1,2,10,11
X	SIGMA-ALDRICH (Chemical Catalog). RN: 2140857-02-7. [Disponible el 10.11.2017]. Base de datos: REGISTRY & CHEMCATS [en línea] [recuperado el 24.04.2019]. Recuperado de STN Internacional, Columbus, Ohio (EE.UU.).	1,2
X	WO 2009/156543 A1 (UNIVERSIDAD DE SANTIAGO DE COMPOSTELA) 30.12.2009, Página 2, líneas 1-20; página 3, líneas 5-32; página 4, líneas 1-22; reivindicación 4.	1-11
X	BONASERA, T.A. et al. "The Synthesis of [26,27- ¹¹ C]Dihydroxyvitamin D ₃ , a Tracer for Positron Emission Tomography (PET)". Bioorganic and Medicinal Chemistry 2001, Volumen 9, Número 12, páginas 3123-3128. ISSN: 0968-0896. DOI: 10.1016/S0968-0896(01)00178-X. [Disponible en línea el 09.11.2001]. [Recuperado el 23.04.2019]. Recuperado de URL: < https://doi.org/10.1016/S0968-0896(01)00178-X >. Ver página 3125, resumen; página 3125, esquema 3.	1,2,10-12
X	KUMAR, R. & DELUCA, H.F. "Side chain oxidation of 1,25-dihydroxyvitamin D ₃ in the rat: Effect of removal of the intestine". Biochemical and Biophysical Research Communications 1977, Volumen 76, Número 2, páginas 253-258. ISSN: 0006-291X. DOI: 10.1016/0006-291X(77)90719-7. [Disponible en línea el 02.12.2004]. Ver página 253, resumen; página 254, materiales y métodos.	1,2,10,11
X	EGUCHI, T. et al. "Synthesis of 1 α -[¹⁹ - ¹³ C]Hydroxyvitamin D ₃ and ¹³ C NMR Analysis of the Conformational Equilibrium of the A-Ring". Bioorganic Chemistry 1991, Volumen 19, Número 3, páginas 327-332. ISSN: 0045-2068. DOI: 10.1016/0045-2068(91)90057-V. [Disponible en línea el 24.05.2004]. Ver página 328, esquema 1; página 330, párrafo 3.	1,2

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
30.04.2019

Examinador
G. Esteban García

Página
1/3



OFICINA ESPAÑOLA
DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

21 N.º solicitud: 201830881

22 Fecha de presentación de la solicitud: 12.09.2018

32 Fecha de prioridad:

INFORME SOBRE EL ESTADO DE LA TECNICA

51 Int. Cl.: Ver Hoja Adicional

DOCUMENTOS RELEVANTES

Categoría	56 Documentos citados	Reivindicaciones afectadas
X	LOUREIRO, J. et al. "Stereoselective synthesis of 1 β ,25-Dihydroxyvitamin D ₃ and its 26, 27-hexadeuterated derivative". Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology 2016, Volumen 164, Número 12, páginas 56-58. ISSN: 1879-1220. DOI: http://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.09.007 . [Disponible en línea el 09.09.2015]. [Recuperado el 21.04.2019]. Recuperado de URL: < https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2015.09.007 >. Ver página 56, resumen; página 57, figura 1; página 58, esquema 2.	1,2,9
A	LEWIS, I.A. et al. "Method for Measuring Carbon-13 Isotopic Enrichment of Metabolites in Complex Solutions". Analytical Chemistry 2010, Volumen 82, Número 11, páginas 4558-4563. ISSN: 0003-2700. DOI: 10.1021/ac100565b. [Disponible en línea el 11.05.2010]. [Recuperado el 29.04.2019]. Recuperado de URL: < https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ac100565b >. Ver página 4558, resumen.	11
A	LIPKIE, T. et al. "Quantification of vitamin D and 25-hydroxyvitamin D in soft tissues by liquid chromatography-tandem mass spectrometry". Journal of Chromatography B: Analytical Technologies in the Biomedical and Life Sciences 2013, Volumen 932, Número 11, Páginas 6-11. ISSN: 1570-0232. DOI: 10.1016/j.jchromb.2013.05.029. [Disponible en línea el 06.06.2013]. [Recuperado el 22.04.2019]. Recuperado de URL: < https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2013.05.029 >. Ver página 6, resumen; página 7, apartado 2.1; página 8, apartado 2.5.3; página 10, tabla 4.	1-12
A	WANG, Z. et al. "Simultaneous measurement of plasma vitamin D ₃ metabolites, including β ,25-dihydroxyvitamin D ₃ , using liquid chromatography-tandem mass spectrometry". Analytical Biochemistry 2013, Volumen 418, Número 1, páginas 126-133. ISSN: 1096-0309. DOI: 10.1016/j.ab.2011.06.043. [Disponible en línea el 13.07.2011]. [Recuperado el 22.04.2019]. Recuperado de URL: < https://doi.org/10.1016/j.ab.2011.06.043 >. Ver página 126, resumen; página 132, conclusiones.	1-12

Categoría de los documentos citados

X: de particular relevancia

Y: de particular relevancia combinado con otro/s de la misma categoría

A: refleja el estado de la técnica

O: referido a divulgación no escrita

P: publicado entre la fecha de prioridad y la de presentación de la solicitud

E: documento anterior, pero publicado después de la fecha de presentación de la solicitud

El presente informe ha sido realizado

para todas las reivindicaciones

para las reivindicaciones nº:

Fecha de realización del informe
30.04.2019

Examinador
G. Esteban García

Página
2/3

CLASIFICACIÓN OBJETO DE LA SOLICITUD

C07C401/00 (2006.01)

C07C13/465 (2006.01)

C07C49/443 (2006.01)

C07C11/28 (2006.01)

G01N33/82 (2006.01)

G01N33/58 (2006.01)

G01N24/08 (2006.01)

C07B59/00 (2006.01)

Documentación mínima buscada (sistema de clasificación seguido de los símbolos de clasificación)

C07C, G01N, C07B

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

INVENES, EPODOC, WPI, TXTE, REGISTRY, CASREACT, CAPLUS, BIOSIS, EMBASE, XPESP, NPL, GOOGLE SCHOLAR, NCBI