

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 969 135**

51 Int. Cl.:

C07C 59/46 (2006.01)

C07C 69/608 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **16.04.2019 PCT/HU2019/050016**

87 Fecha y número de publicación internacional: **24.10.2019 WO19202345**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **16.04.2019 E 19733101 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.11.2023 EP 3781544**

54 Título: **Procedimiento para la preparación de iloprost**

30 Prioridad:

16.04.2018 HU 1800125

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

16.05.2024

73 Titular/es:

EUROAPI HUNGARY LIMITED LIABILITY COMPANY (100.0%)

To u. 1-5.

1045 Budapest, HU

72 Inventor/es:

ROZSUMBERSZKI, IMRE;

KARDOS, ZSUZSANNA;

HORTOBÁGYI, IRÉN;

SZABÓ, TIBOR;

VÁRADI, CSABA y

BÁN, TAMÁS

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

ES 2 969 135 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).

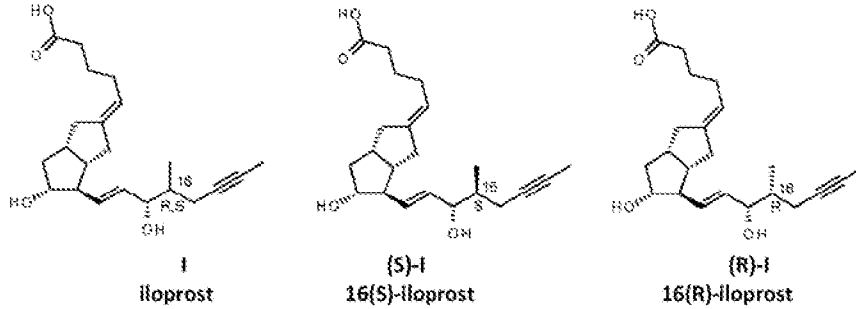
DESCRIPCIÓN

Procedimiento para la preparación de iloprost

5 El objeto de nuestra invención es un procedimiento para la preparación de iloprost de fórmula I a través de nuevos intermediarios, aislamiento de iloprost en forma sólida, así como también la preparación de los isómeros 16(S)-iloprost y 16(R)-iloprost de fórmulas (S)-I y (R)-I y aislamiento del 16(S)-iloprost de fórmula (S)-I en forma sólida cristalina.

10

15



20

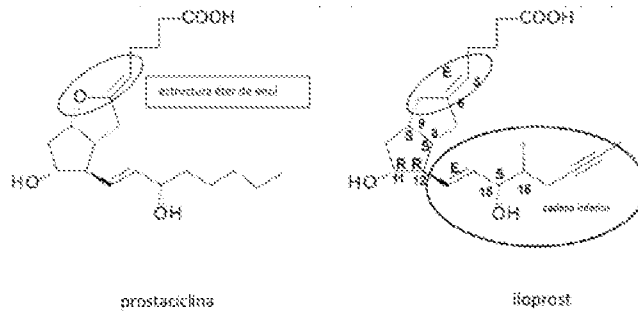
Técnica anterior

25

El Iloprost es un derivado de la carbaciclina. El esqueleto de carbaciclina es una prostaciclina modificada, donde el átomo de oxígeno del anillo de cinco miembros que contiene oxígeno se reemplaza por un átomo de carbono. Las carbaciclina no contienen la parte estructural de éter de enol, que es muy sensible, por lo que estas son químicamente más estables que las prostaciclina. Las propiedades químicas y bioquímicas de la estructura de carbaciclina, así como también las primeras síntesis, se resumen en la publicación de R. C. Nickolson, M. H. Town, H. Vorbrüggen, Prostacyclin-analogues, Medicinal Research Reviews, vol. 1985, 5 (1), 1-53.

30

35



40

45

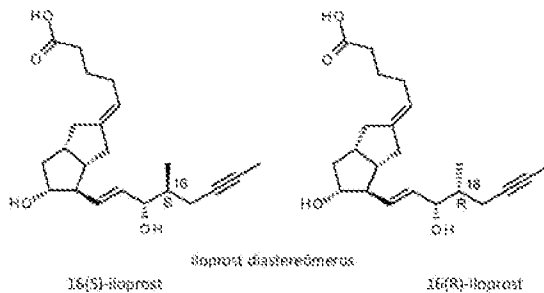
El Iloprost contiene 6 centros asimétricos y éste es una mezcla en una relación aproximada de 1:1 de dos diastereoisómeros, ya que la configuración del átomo de carbono en la posición 16 puede ser (R) o (S) con respecto a la posición estérica del grupo metilo. Aunque, en la actualidad, se usa en terapia una mezcla de relación casi 1:1 de 16(R)-iloprost y 16(S)-iloprost, las actividades de los dos isómeros son diferentes, el 16(S)-iloprost es más efectivo (documentos Biochimica et Biophysica Acta, Biomembranes 1988, 942(2), 220-6; Prostaglandins, 1992, 43, 255-261). Las autoridades reguladoras instan al desarrollo del 16(S)-iloprost como ingrediente farmacéutico activo.

50

Se señala en la presente que los átomos de carbono de la cadena inferior están numerados en todos los casos de acuerdo con las reglas aceptadas en la química de las prostaglandinas. Esta numeración en algunos casos difiere de los nombres de la Chemical Abstract (CAS) y la IUPAC. En los Ejemplos, para los compuestos conocidos hasta ahora, se usan nombres CAS, mientras que para los compuestos nuevos, nombres IUPAC.

55

60



65

En la terapia, el iloprost se usa para tratar enfermedades arteriales periféricas (*enfermedad obstructiva arterial periférica*, PAOD) (1992, Bayer Schering Pharma) e *hipertensión pulmonar* (2004, Bayer Schering Pharma).

5 La etapa clave de la síntesis de iloprost es la construcción del biciclo apropiadamente sustituido que contiene dos anillos de cinco miembros.

Las citaciones de los procedimientos más frecuentes para preparar la cetona bicíclica adecuadamente sustituida pueden encontrarse en las últimas publicaciones, las cuales describen la síntesis del 16(S)-iloprost ópticamente activo:

10

S. Chandrasekhar, Ch. Sridhar, P. Srihari, *Tetrahedron Asymmetry*, 2012, 23, 388-394;

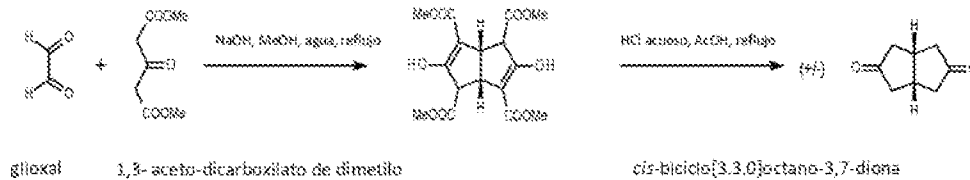
H-J. Gais, G. J. Kramp, D. Wolters, L. R. Reddy, *Chem. Eur. J.*, 2006, 12, 5610-5617;

15

G. J. Kramp, M. Kim, H-J. Gais, C. Vermeeren, *J. Am. Chem. Soc.*, 2005, 127, 17910-17920.

La cetona bicíclica se sintetizó mediante la reacción de glioxal con 1,3-aceto-dicarboxilato de dimetilo (documentos A. Gawish, U. Weiss, *Org. Synth.*, 1986, 64, 27-38; H. Dahl (Schering AG), DE 3816801, J. A. Caedieux, D. J. Buller, P. D. Wilson, *Org. Lett.*, 2003, 5, 3983-3986). (Esquema 1.)

20



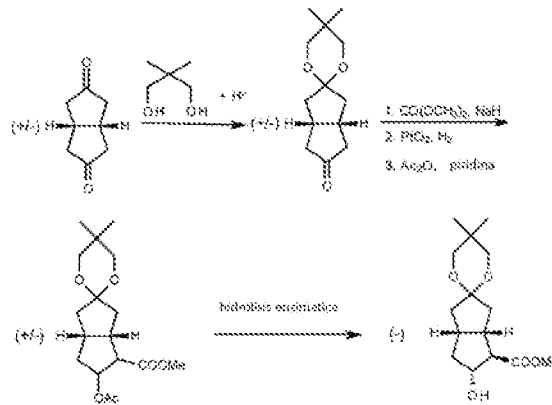
25

Esquema 1.

30

La cis-biciclo[3.3.0]octano-3,7-diona se catalizó selectivamente con neopentilglicol, el monocetal se hizo reaccionar con carbonato de dimetilo en presencia de hidruro de sodio, el grupo oxo se redujo, el alcohol se acetiló y el acetato se resolvió mediante hidrólisis enzimática (H. Dahl (Schering AG), DE 3816801). (Esquema 2.)

35



40

45

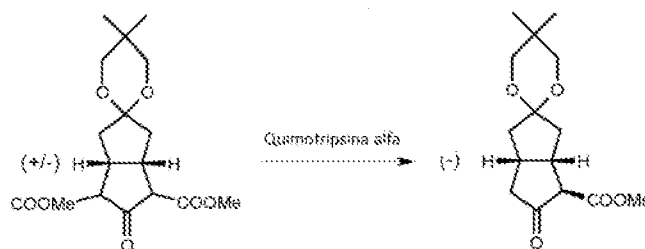
50

Esquema 2.

Los investigadores de Schering también desarrollaron la mono-metoxicarbonilación selectiva enzimática, del monocetal disustituido con el grupo metoxicarbonilo (documento K. Petzoldt, H. Dahl, W. Skuballa, M. Gottwald, *Liebigs. Ann. Chem.*, 1990, 1087-1091.). (Esquema 3.)

55

60



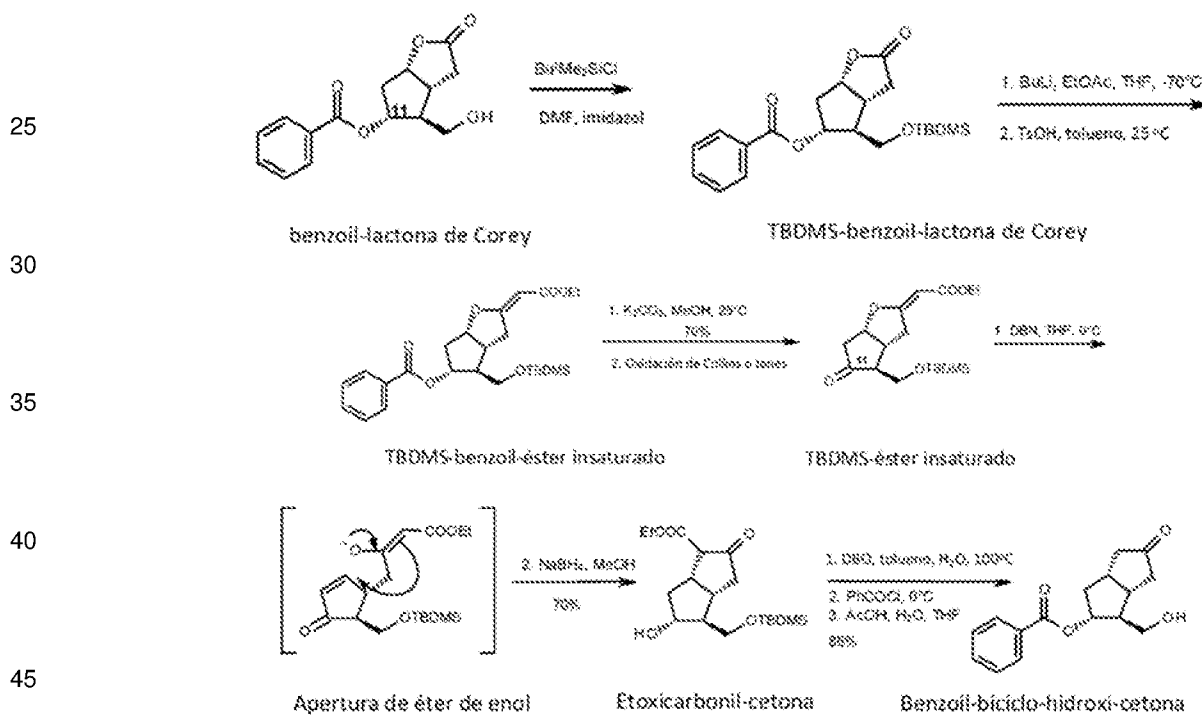
65

Esquema 3.

El biciclo apropiadamente sustituido también puede formarse a partir de la lactona quiral de Corey apropiadamente sustituida, la cual es el material de partida más frecuentemente usado para los derivados de prostaciclina.

5 En el procedimiento de Skuballa y Vorbrüggen (documento Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1981, 20, 1046-1048) el grupo hidroxilo primario de la lactona de Corey que contiene el grupo protector benzoilo se protegió con cloruro de terc-butildimetilsililo (TBDMSCI).

La TBDMS-benzoil-lactona de Corey se hizo reaccionar con acetato de etilo litiado en THF a (-)70 °C, después se eliminó el agua del hidroxi éster resultante. El grupo protector benzoilo del TBDMS-benzoil-éster insaturado se escindió mediante metanolisis en presencia de carbonato de potasio, el grupo hidroxilo secundario se convirtió en el grupo oxo mediante oxidación con cromo. El anillo de éter de enol reactivo del TBDMS-éster insaturado en el tratamiento con 1,5-diazabicyclo[4.3.0]non-5-eno (DBN) experimentó apertura de anillo y ciclación hasta cetona. El grupo 11-oxo se redujo hasta grupo alcohol secundario con borohidruro de sodio en una reacción en un solo recipiente. La selectividad de la reducción se aseguró mediante la participación de los grupos vecinos, pero no se proporcionó la pureza epimérica, aunque esto es de importancia clave para la pureza óptica y la cantidad de isómeros ópticos. El rendimiento total de la apertura del anillo y la reducción del grupo oxo fue 70 %. El grupo etoxicarbonilo de la etoxicarbonilcetona se eliminó mediante reflujo en tolueno acuoso en presencia de 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octano (DBO), el grupo hidroxilo secundario se protegió con un grupo benzoilo, y el grupo protector sililo del grupo hidroxilo primario se escindió. El rendimiento total de estas tres etapas fue 43 %. (Esquema 4.)



Esquema 4.

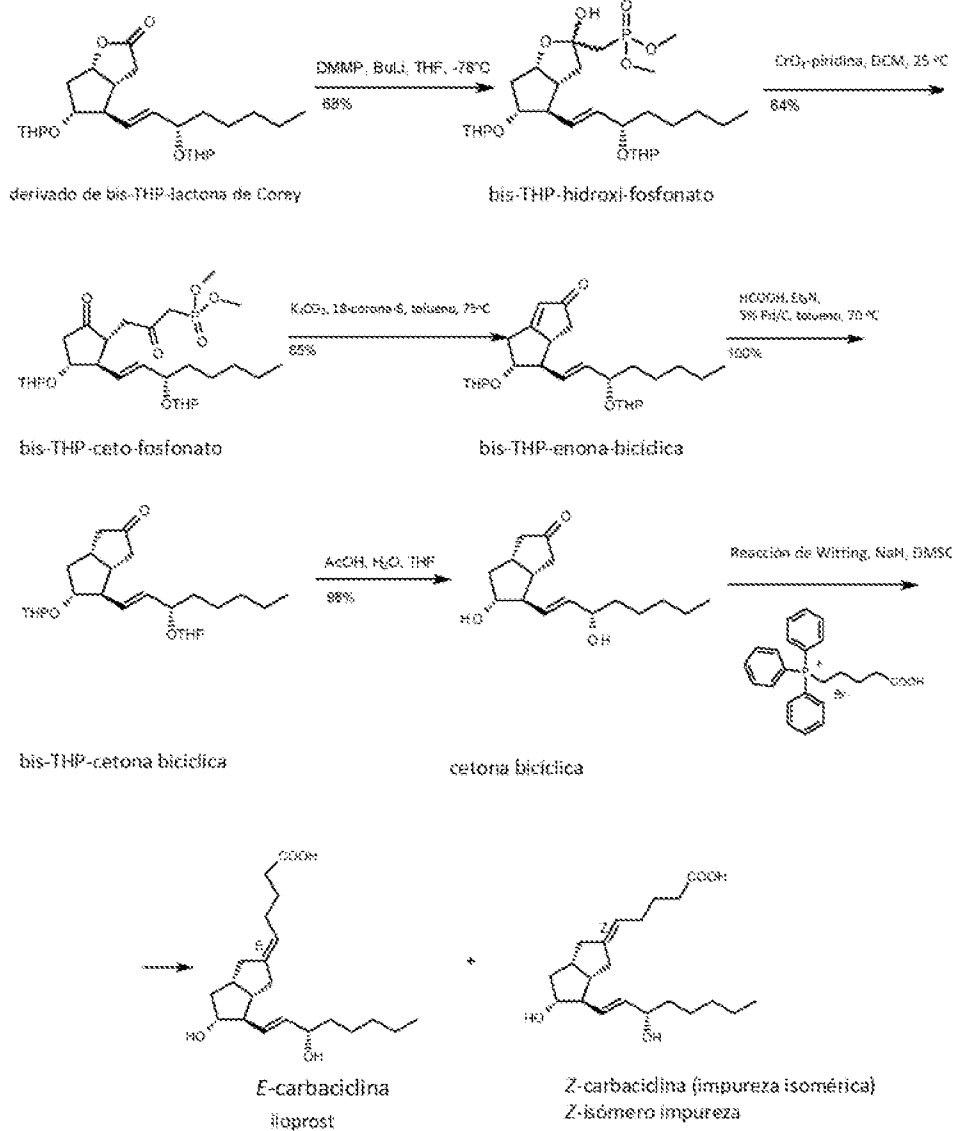
50 A partir de la hidroxiketona bicíclica protegida, las cadenas interior y superior de liprost pueden formarse mediante reacciones de Wittig o Wittig modificadas.

La ventaja del procedimiento es que la cetona bicíclica ópticamente activa intermediaria, necesaria para la síntesis de carbaciclina, se forma a partir de la lactona de Corey ópticamente activa, la cual se usa ampliamente en la química de las prostaglandinas. Sin embargo, la desventaja es que la reacción de la lactona de Corey con el compuesto de litio de acetato de etilo también produce numerosos sub-productos, los cuales disminuyen significativamente el rendimiento (en la publicación mencionada no se indica el rendimiento de esa etapa).

60 De acuerdo con el procedimiento de Upjohn (documento P. A. Aristoff, P. D. Johnson, A. W. Harrison, J. Org. Chem., 1981, 46, 1954-1957.) la lactona de Corey protegida, que ya contiene la cadena inferior, se convierte en el intermediario adecuado para la preparación de carbaciclina.

65 En la primera etapa, se trató el derivado de bis-THP-lactona de Corey (THP = tetrahidropirano) con la sal de litio de metilfosfonato de dimetilo (DMMP). El bis-THP-hidroxi fosfonato resultante se oxidó mediante oxidación de Collins modificada hasta el bis-THP-cetofosfonato. La reacción intramolecular de Horner-Wadsworth-Emmons (HWE) del bis-THP-cetofosfonato proporcionó la enona bis-THP-bicíclica. El doble enlace de la enona se saturó mediante hidrogenación por transferencia (bis-THP-cetona bicíclica), luego los grupos protectores de THP se eliminaron

mediante hidrólisis ácida (cetona bicíclica). La cadena superior de la cetona bicíclica, que ya contiene la cadena inferior, se formó mediante reacción de Wittig. El fosforano necesario para la reacción se preparó *in situ* a partir de bromuro de 4-carboxibutiltrifenilfosfonio. La reacción, además del producto deseado con el doble enlace de geometría E (65 %), también produjo una cantidad significativa de isómero Z (35 %) (Esquema 5.)



Esquema 5.

El procedimiento contiene etapas escalables con buenos rendimientos, su desventaja es que la formación de la cadena superior no es selectiva y el producto contiene una cantidad significativa de contaminación por isómero Z. En una publicación posterior (documento P. A. Aristoff, P. D. Johnson, A. W. Harrison, J. Org. Chem, 1983, 48, 5341-5348.) los autores describen las etapas químicas anteriores con mayores rendimientos.

5

10

15

20

Etapa química	J. Org. Chem., 1981, 46, 1954.	J. Org. Chem., 1983, 48, 5341.	Rendimiento calculado para el intermediario deseado en publicaciones JOC	Procedimiento Chinoín de la presente solicitud.
a) formación de fosfonato	68 % (20 % material de partida)	99 % (20 % material de partida)	79 %	96 %
b) oxidación	64 % (29 % del producto eliminado III)**	64 % (29 % del producto eliminado III)**	35 %	63 % (\leq 5 % de producto eliminado)**
c) reacción HWE	65 %	77 %	77 %	65 %*
Reacción de Wittig (% de isómero E/Z)		65 %: 35 %		60 %: 40 %
Suma de rendimiento de II-VII			21,3 %	39,3 %
*con reciclaje (conjuntamente con la isomerización UV)				
**la estructura del producto III eliminado se muestra en el Esquema 9.				

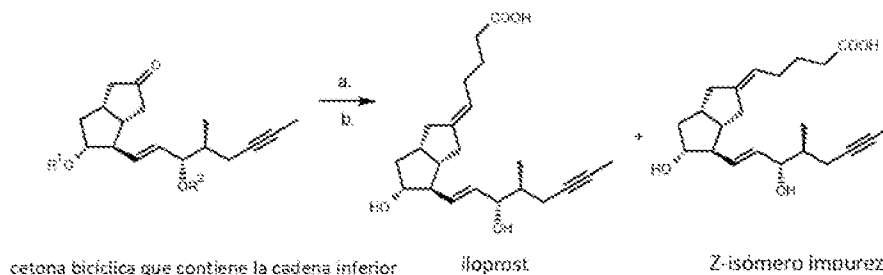
25

Se han realizado muchos intentos para mejorar la selectividad de la reacción de Wittig que forma la cadena superior.

Investigadores de Schering (documento J. Westermann, M. Harre, K. Nickish, Tetrahedron Letters, 1992, 33, 8055-8056.) investigaron cómo los grupos protectores de la cetona bicíclica, que ya contiene la cadena inferior, y las condiciones de reacción de la reacción de Wittig influyeron en la selectividad de la reacción.

30

35



40

Esquema 6.

45

- a. reacción de Wittig; Bromuro de 4-carboxibutiltrifenilfosfonio/terc-butilato de potasio
b. desprotección, si R¹ y/o R² no es hidrógeno

50

En base a los experimentos, ellos afirmaron que la peor relación isomérica (E: Z= 60:40) se obtuvo mediante el uso del grupo protector THP (R¹=R²=THP) y la mezcla de disolventes DMSO-THF.

La mejor relación isomérica (E: Z= 90:10) se logró cuando la cetona bicíclica no contenía grupo protector (R¹=R²=H) y se eligió dimetoxietano como disolvente.

55

H-J. Gais y sus colaboradores (documento J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 17910-17920) repitieron esta reacción a partir de la lactona de Corey, la cual contenía la cadena inferior quiral de iloprost, pero ellos obtuvieron una relación isomérica mucho menos favorable (E: Z= 62:38).

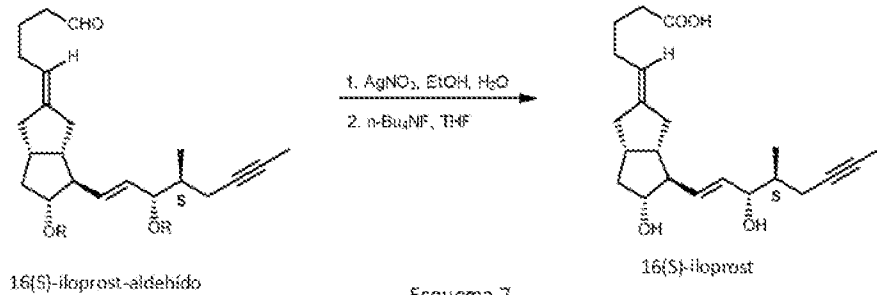
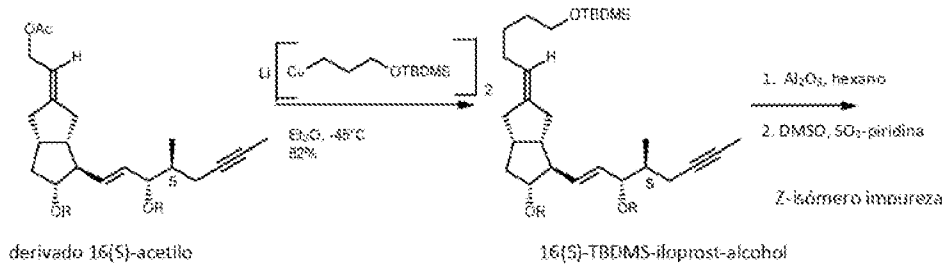
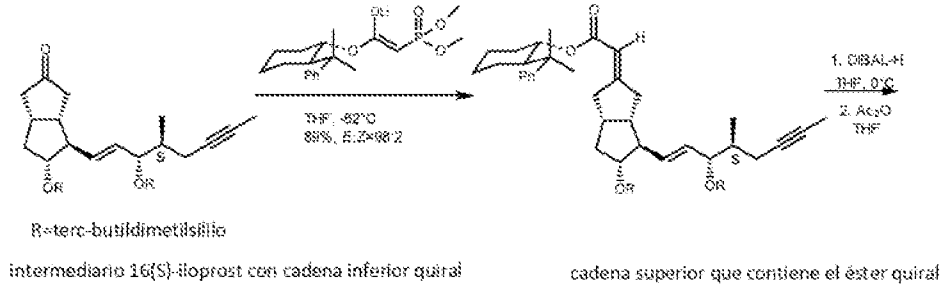
60

Al examinar los datos de la literatura, H-J Gais y colaboradores (documentos G. J. Kramp, M. Kim, H-J. Gais, C. Vermeeren, J. Am. Chem. Soc., 2005, 127, 17910-17920; H-J. Gais, Kramp G. J., D. Wolters, L. R. Reddy, Chem. EUR. J., 2006, 12, 5610-5617) desarrollaron un procedimiento más selectivo, conocido hasta ahora, para construir la cadena superior. El procedimiento se desarrolló para la síntesis de iloprost que contiene una cadena inferior quiral.

65

La cadena superior se construyó en dos etapas. La primera etapa, para asegurar la selectividad, se llevó a cabo con fosfonato quiral. La sal de litio del fosfonato quiral se hizo reaccionar a (-)78-(-)62 °C con la cetona bicíclica protegida correspondiente al iloprost, pero que contiene una cadena inferior quiral. La reacción quiral HWE se llevó a cabo a partir de 300 mg de cetona bicíclica. En la reacción sólo se formó un 2 % de isómero Z. El grupo éster se redujo al alcohol con hidruro de diisobutilaluminio (DIBAL-H), el alcohol se protegió con un grupo acetilo. La cadena superior,

con el número apropiado de átomos de carbono, se construyó mediante tratamiento del derivado acetilado con reactivo de cuprato protegido con un grupo terc-butildimetilsililo (TBDMS). El grupo protector del alcohol primario se eliminó mediante desililación suave (mediante tratamiento con óxido de aluminio neutro en hexano), el alcohol primario se oxidó hasta aldehído con reactivo DMSO-piridina. El aldehído se oxidó hasta ácido con nitrato de plata, para obtener, después de la eliminación de los grupos protectores, el (16S)-iloprost el cual contiene una cadena inferior quiral (Esquema 7.).

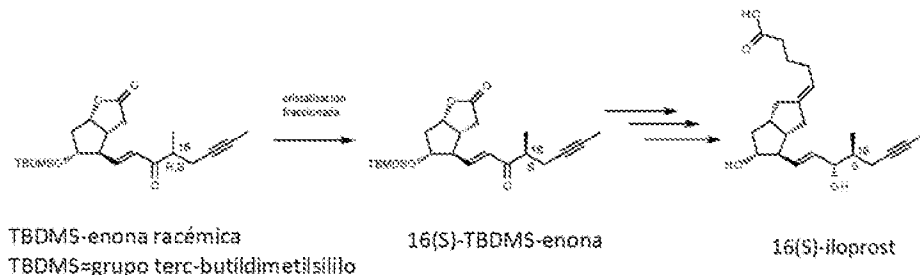


La cantidad preparada de 16(S)-iloprost fue 20 mg, no se caracterizó su estado físico.

La ventaja del procedimiento anterior es que durante la construcción de la cadena superior sólo se forma 2 % de impureza del isómero Z. Desventajas: es difícil de escalar, éste aplica condiciones de reacción extremas y usa reactivos costosos preparados en síntesis de muchas etapas.

En la memoria descriptiva de la patente CN 107324986 se describe la preparación de la (S)-TBDMS-enona quiral, la cual se obtiene mediante cristalización fraccionada de la TBDMS-enona racémica (Figura 8.).

A partir de la (S)-TBDMS-enona quiral puede prepararse el 16(S)-iloprost.



Esquema 8.

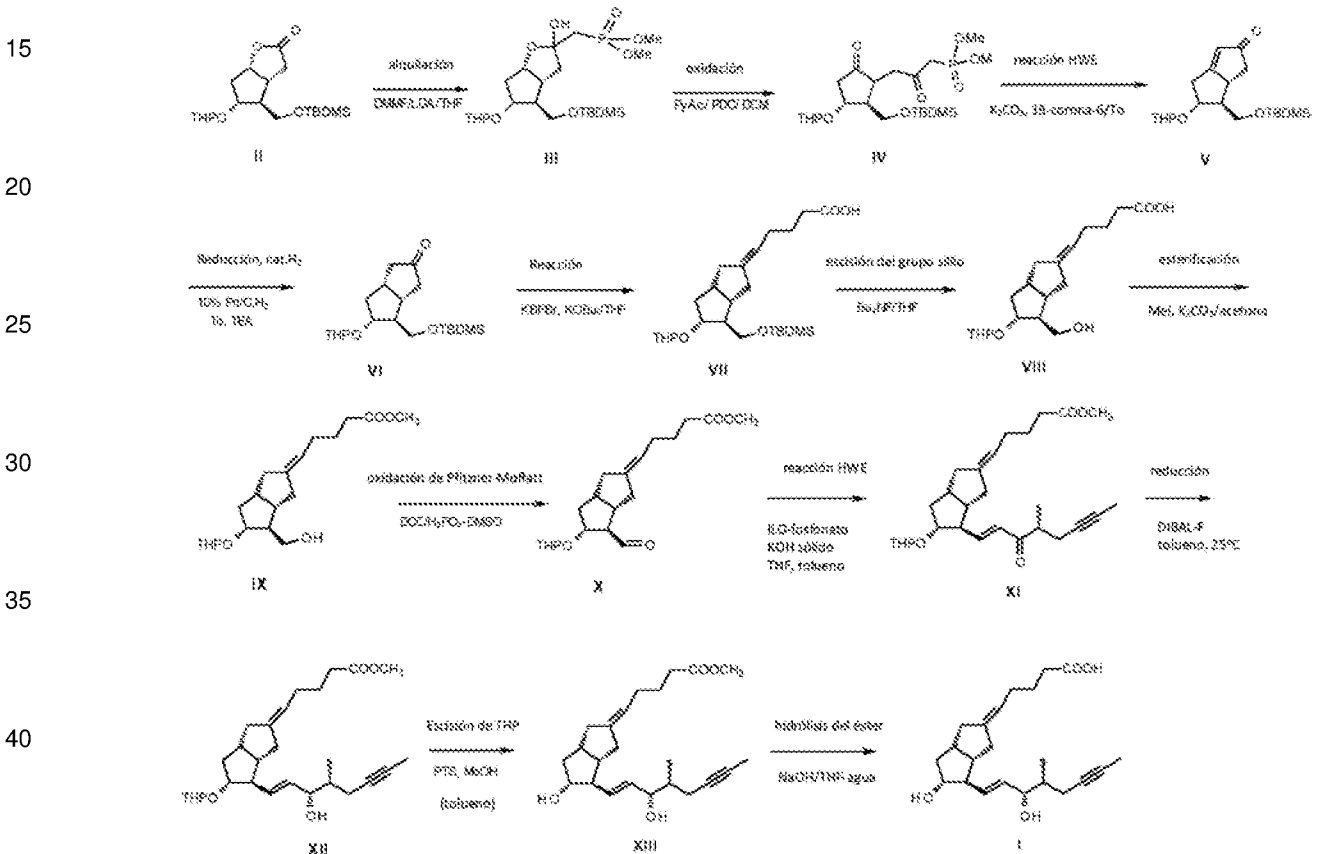
El procedimiento es la síntesis formal de 16(S)-iloprost. La solicitud de patente contiene, únicamente, la preparación de la enona quiral. En cuanto a la preparación y caracterización física del 16(S)-iloprost, no se proporcionan ejemplos de preparación ni características físicas.

5 El documento WO 2011/003058 divulga los procedimientos de preparación de nuevos derivados de prostaciclina.

Nuestro propósito es desarrollar una síntesis alternativa para iloprost la cual proporcione un mejor rendimiento que los procedimientos conocidos hasta ahora.

10 Descripción de la invención

El procedimiento de acuerdo con la invención reivindicada en la presente solicitud se describe en el Esquema 9.



Esquema 9.

50 En el procedimiento de acuerdo con la invención, primero se incorpora la cadena superior en la lactona de Corey protegida de fórmula II.

55 En el curso de la preparación del compuesto III, para formar el fosfonato, se requiere una base fuerte para desprotonar el metilfosfonato de dimetilo. Sin embargo, una base fuerte, como por ejemplo butil-litio, aplicada en cantidad excesiva, abrirá el anillo de lactona (un éster latente de ácido carboxílico).

60 Cuando se usa una base fuerte, por ejemplo, butil-litio, el anión formado a partir del anillo de lactona abierto no será alquilado por el fosfonato y después del procesamiento se obtendrá nuevamente el material de partida, en función de las condiciones de reacción, en hasta una cantidad de 20 %.

65 En el procedimiento de acuerdo con la invención se aplican diisopropilamida de litio o dialquilamidas de litio las cuales desprotonan selectivamente el dimetilfosfonato de metilo, el anillo de lactona no se abrirá (permanece intacto), por lo que el fosfonato alquila la cantidad total del compuesto II y se forma el éster de ácido fosfónico, la cantidad de material de partida después del procesamiento permanece por debajo de 2 %.

En el caso de los compuestos anteriores, se aplica preferentemente diisopropilamida de litio, ya que la diisopropilamina liberada del reactivo puede eliminarse del producto.

Durante la preparación del compuesto de fórmula IV

5

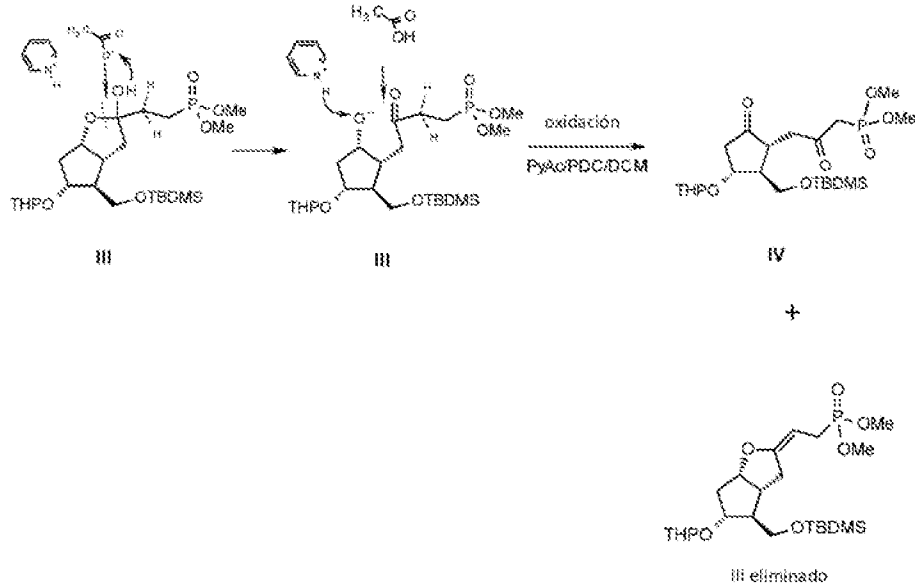
10

15

20

25

30



Esquema 10.

el anillo lactol debe abrirse (escisión de cetal), y el grupo hidroxilo secundario liberado debe oxidarse. La reacción claramente debe realizarse en medio ácido, dado que en condiciones básicas una reacción HWE incontrolada comenzará a suministrar el subproducto III eliminado (Esquema 10.)

35

En la literatura ("Synthesis of a carbaprostacyclin intermediate -6 β -[(terc-butyl dimethylsiloxy)methyl]-7-a-[(tetrahydropyran-2-yl)oxy]bicyclo[3.3.0]octan-3-one", Huaxue Xuebao, 1987, 45 (7), 727-9; US 4420632 A1, US 9831213, GB 2070596, GB 2070596) simplemente las condiciones ácidas del oxidante Collins: CrO₃.piridina, reactivo de Jones: CrO₃.ácido sulfúrico acuoso, oxidaciones con PCC y PDC se utilizan para abrir el anillo; sin embargo, en condiciones ácidas fuertes, el cetal produce, vía deshidratación, en aproximadamente 20-30 % el denominado compuesto III eliminado que contiene doble enlace.

40

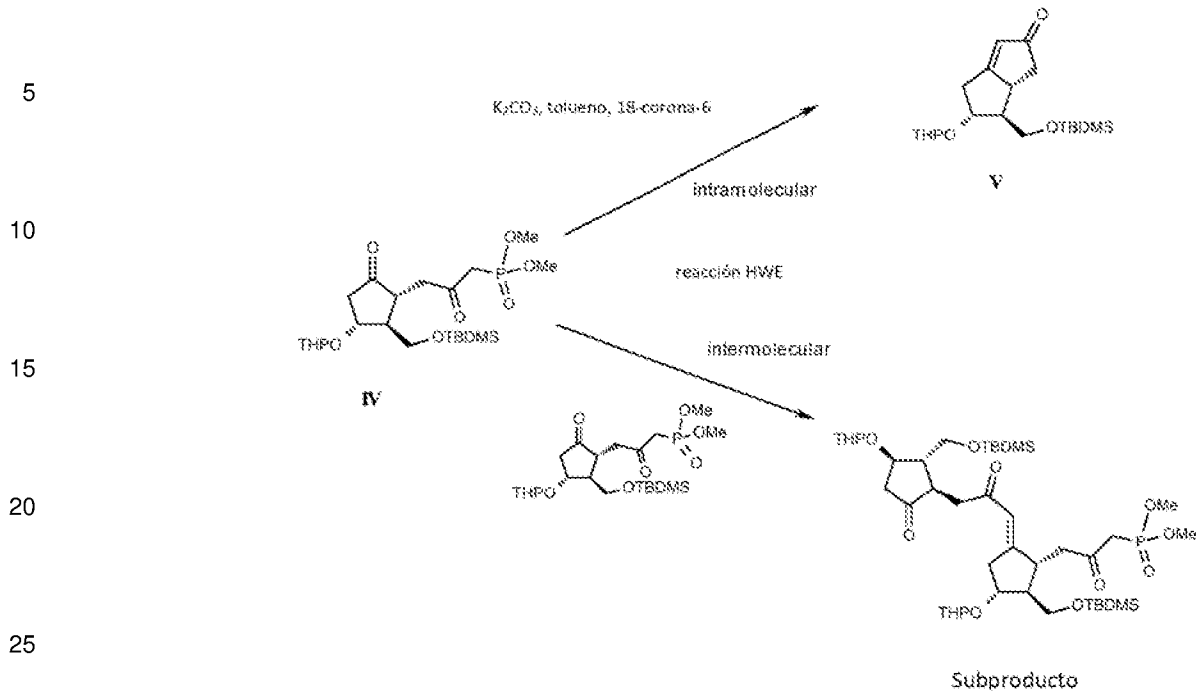
En el procedimiento de acuerdo con la invención, el anillo de lactol se abre bajo condiciones ácidas muy suaves con acetato de piridinio y, seguido de la apertura del lactol, el grupo hidroxilo liberado se oxida con PDC, el cual trabaja bajo condiciones mucho más suaves que el PCC. La oxidación tiene lugar lentamente, pero la cantidad de las llamadas impurezas eliminadas y de los productos de descomposición es mucho menor, menos de 5 %.

45

Para la preparación del compuesto de fórmula V, de manera similar a los procedimientos conocidos de la literatura, el procedimiento de acuerdo con la invención también usa carbonato de potasio en medio tolueno, el catalizador de la reacción intramolecular HWE (Horner-Wadsworth-Emmons) es el reactivo 18-corona-6. Sin embargo, el procedimiento conocido ha sido desarrollado por nosotros. En esta etapa de reacción, compiten dos reacciones, la HWE intramolecular y la intermolecular. Las condiciones apropiadas, como una dilución alta (preferentemente 30-45 veces), una temperatura alta (90-110 °C) y el procedimiento de adición aplicado, favorecerán la reacción HWE intramolecular. En nuestro procedimiento de adición, a la solución en reflujo de los reactivos se añade, gota a gota, la solución de IV muy lentamente, por lo que este reacciona inmediatamente de forma intramolecular. Dado que no hay exceso de IV, no hay posibilidad de formar dímeros y participar en la reacción de Wittig intermolecular. El resultado: la relación de dímeros cayó de 15 % a menos de 3 %. El rendimiento aumentó de 35 % a 50 % (Esquema 11.)

50

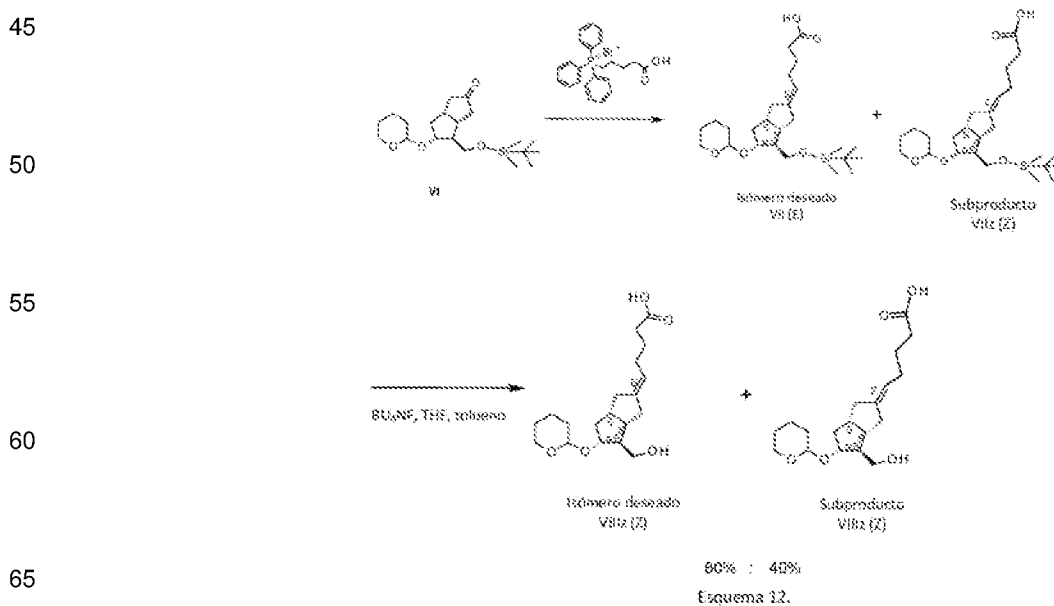
55



Esquema 11.

30 Para preparar el compuesto de fórmula VI, se aplica el procedimiento también usado en la literatura, reducción con paladio sobre carbón, como disolvente se aplica tolueno el cual contiene trietilamina para proteger los grupos protectores THP. El intermediario se purifica mediante cromatografía. La reducción también puede llevarse a cabo mediante el uso de catalizador de Níquel Raney.

35 En el procedimiento de acuerdo con la invención, la cadena superior se construye en la etapa donde se prepara el compuesto de fórmula VII mediante reacción de Wittig. El grupo protector TBDMS del compuesto deseado VII y el de la impureza isomérica no deseada VIIz, obtenido como subproducto, se elimina con fluoruro de tetrabutilamonio (Bu_4NF), el compuesto resultante VIII (*E*-isómero) y la impureza VIIIz de isómero *Z* se separan mediante cromatografía gravitacional. Mediante purificación cromatográfica de alta resolución, la cantidad de impureza de isómero *Z* puede reducirse hasta 0,2-0,5 % (pureza óptica, exceso diastereomérico (de) = 99,0-99,6 %). A modo de comparación, la pureza alcanzada en la reacción estereoselectiva de Wittig, el procedimiento descrito en la literatura, fue solamente de = 96 %. (Esquema 12.)



En el procedimiento de acuerdo con la invención el isómero Z (VIIIz) no deseado puede reciclarse a la síntesis. En nuestro procedimiento de reciclaje, el isómero Z no deseado se isomeriza en un reactor UV, en un medio de tolueno en presencia de un sensibilizador (10 % en moles de disulfuro de dimetilo) y a partir de la mezcla que contiene 10-30 % de isómero E obtenemos un producto con aprox. 55 % de contenido de isómero E, el cual después de la purificación cromatográfica proporciona el isómero E (VIII) con 41 % de rendimiento, el cual puede reciclarse en el procedimiento de purificación. El rendimiento del intermediario VIII a partir del intermediario VI es 65 %. Al comparar la viabilidad técnica y los gastos de nuestro procedimiento con el de H-J. Gais y sus colaboradores, donde en la reacción HWE se aplica fosfonato quiral, podemos afirmar que el procedimiento de acuerdo con la presente invención es más económico, este no requiere el costoso fosfonato quiral preparado en muchas etapas.

El compuesto de fórmula VIII se esterifica mediante un procedimiento conocido, en acetona con yoduro de metilo en presencia de carbonato de potasio, lo que proporciona el éster de fórmula IX.

Para preparar el compuesto de fórmula X a partir del compuesto IX se han elaborado tres procedimientos, oxidación de Pfitzner-Moffatt con DMSO y ácido fosfórico que contiene DCC o DIC, así como oxidación de Anelli (hipoclorito de sodio, catalizador TEMPO). A partir del compuesto obtenido de fórmula X se construyó la cadena inferior mediante el procedimiento HWE.

Cuando se aplica la oxidación de Pfitzner-Moffatt, durante la reacción HWE, el fosfonato se libera preferentemente en un solo recipiente. Después de la oxidación, el compuesto de fórmula X está en solución de tolueno, a la solución se añade una pequeña cantidad de THF, después ILO-fosfonato, y después KOH sólido. El efecto favorable del KOH es que éste no se disuelve en la mezcla de reacción, por lo que éste reacciona únicamente con el ILO-fosfonato y prácticamente no reacciona con el aldehído X, por lo que la cantidad de impureza formada a partir del aldehído es muy baja.

La ventaja de la oxidación con catalizador TEMPO, en comparación con las oxidaciones de Pfitzner-Moffatt, es que ésta no produce una cantidad elevada de derivado de carbamida la cual es difícil de eliminar.

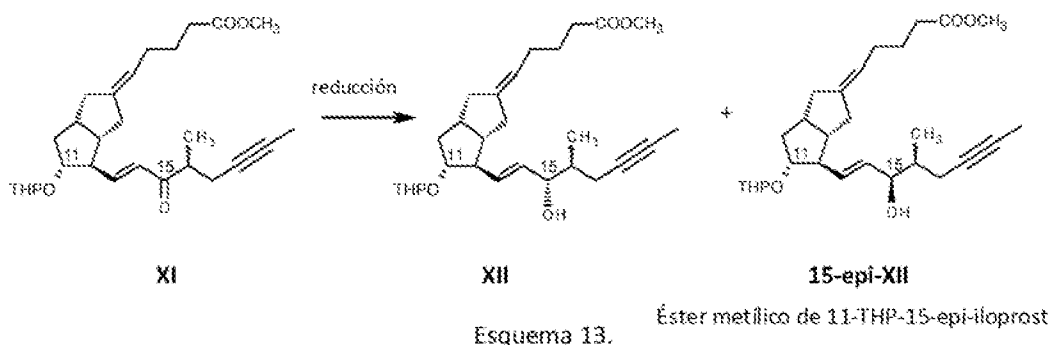
El compuesto de la fórmula XI es un nuevo compuesto.

En el procedimiento de acuerdo con la invención se reducen los compuestos de fórmula XI.

Se han probado cuatro agentes reductores diferentes (cloruro de cerio(III)/NaBH₄, catalizador de catecolborano-CBS-oxazaborolidina, aluminato de diisoborneol-oxi-diisopropilo, DIBAL-F). También se investigaron los efectos de otros parámetros (por ejemplo, la temperatura).

El agente reductor más favorable resultó ser el DIBAL-F; este reactivo se preparó mediante la reacción de hidruro de diisobutilaluminio con 2,6-di-terc-butil-4-metilfenol.

La principal impureza es el subproducto de la reducción, éster metílico de 11-THP-15-epi-iloprost. (Esquema 13.)



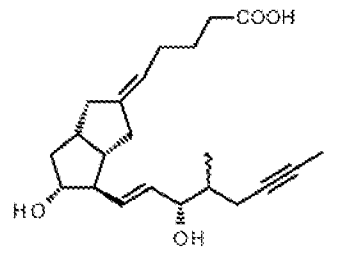
La relación del producto y del 15-epímero en la reducción fue 75:25 mediante el uso del agente reductor DIBAL-F (en los primeros experimentos, mediante el uso de reactivos de cloruro de cerio/borohidruro de sodio, esta proporción isomérica fue 60:40).

Después de la descomposición del agente reductor y la eliminación de los subproductos solubles en agua, el grupo THP se escinde con metanol y ácido para-toluenosulfónico. En un procedimiento preferido, la solución de tolueno no se procesa, pero el grupo protector se elimina sin aislar el compuesto de fórmula XII.

El compuesto de fórmula XII es nuevo.

Los compuestos de fórmula XIII pueden purificarse mediante cromatografía. Durante la cromatografía gravitacional

5



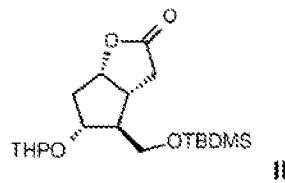
10

de manera que

15

a.) La lactona de Corey de fórmula II

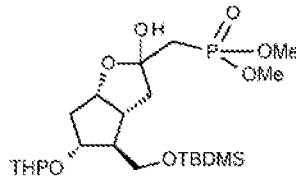
20



25

se alquila selectivamente con metilfosfonato de dimetilo en presencia de dialquilamida de litio, b.) el anillo del lactol resultante de fórmula III

30



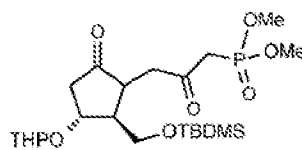
35

III

40

se abre con acetato de piridinio en un medio ácido suave, después el grupo hidroxilo secundario obtenido se oxida con dicromato de piridinio, c.) el compuesto resultante de fórmula IV

45

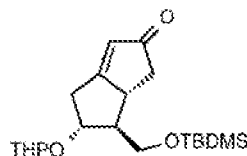


IV

50

se hace reaccionar con carbonato de potasio en presencia del reactivo 18-corona-6, d.) el compuesto obtenido de fórmula V

55

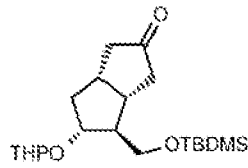


60

V

se reduce, e.) el compuesto resultante de fórmula VI

5

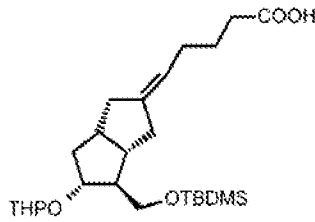


10

VI

se hace reaccionar con bromuro de carboxibutiltrifenilfosfonio en presencia de terc-butilato de potasio, f.) el grupo protector TBDMS de los isómeros obtenidos E y Z de fórmula VII

15



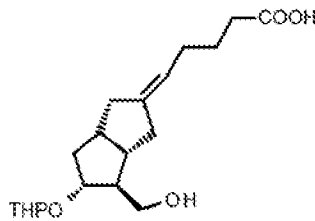
20

VII

se elimina, los isómeros se separan mediante cromatografía gravitacional, si se desea, el isómero Z (VIIIZ) se isomeriza en el isómero E, g.) el compuesto resultante de fórmula VIII

25

30



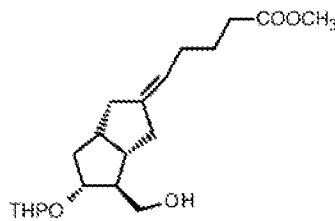
35

VIII

40

se esterifica, h.) el compuesto obtenido de fórmula IX

45



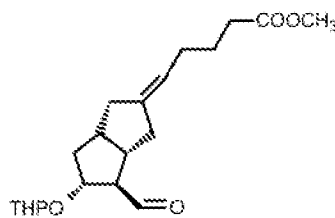
50

IX

55

se oxida, i.) el compuesto resultante de fórmula X

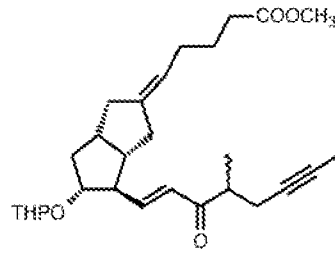
60



65

se transforma en la reacción HWE en presencia de hidróxido de potasio sólido en el compuesto de fórmula XI, j.) el grupo oxo del compuesto de fórmula XI así obtenido

5

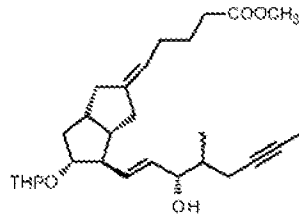


10

XI

se reduce con DIBAL-F, k.) el grupo protector tetrahidropiranilo del compuesto de fórmula XII

20



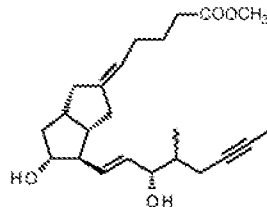
25

XII

se elimina y el compuesto se purifica mediante cromatografía en columna gravitacional, si se desea se purifica adicionalmente mediante preparativo de HPLC, l.) el grupo éster del compuesto de fórmula XIII

30

35



40

XIII

se elimina y el compuesto obtenido de fórmula I se purifica.

45

En una realización preferente del procedimiento de acuerdo con la invención como dialquilamida de litio se aplica diisopropilamida de litio o dicitclohexilamida de litio. Para la preparación del compuesto de fórmula V, la reacción HWE se lleva a cabo en alta dilución y a alta temperatura, preferentemente a 90-110 °C, de manera que la solución del compuesto de fórmula IV se añade gota a gota a la solución en reflujo de los reactivos.

50

La separación de los isómeros E y Z de fórmula VIII se lleva a cabo mediante el uso de mezclas en gradiente por etapas de tolueno: éter metil terc-butílico como eluyente.

55

La isomerización del isómero Z se lleva a cabo mediante irradiación en presencia de un sensibilizador de disulfuro de dimetilo, la escisión del grupo protector sililo se realiza con fluoruro de tetrabutilamonio trihidratado.

60

La oxidación del compuesto de fórmula IX se lleva a cabo mediante oxidación de Pfitzner-Moffatt con una mezcla de ácido fosfórico-DMSO que contiene DCC o DIC, o mediante oxidación de Anelli (hipoclorito de sodio, catalizador TEMPO).

60

En una versión preferida del procedimiento de acuerdo con la invención los compuestos de fórmulas X y XII no se aíslan.

65

En otra realización preferente del procedimiento de acuerdo con la invención, el isómero 15R de fórmula XIIIb se separa mediante cromatografía y, después de la oxidación, y protección con THP del grupo 11-OH, se recicla a la

síntesis.

El producto final bruto de fórmula I se purifica mediante cromatografía gravitacional y/o preparativo de HPLC.

5 Los compuestos de fórmulas XI y XII son compuestos nuevos.

Para el producto final de iloprost, la pureza es el parámetro más importante, dado que los productos de diferente pureza se comportan de manera diferente. A partir de que el iloprost alcance un cierto nivel de pureza puede prepararse un producto en fase sólida.

10 Un objeto adicional de esta divulgación es la preparación de la forma sólida de iloprost (*esta realización no está cubierta por las reivindicaciones*) mediante disolución del compuesto oleoso purificado de fórmula I en la misma cantidad de disolvente polar que la masa del producto oleoso, adición de tal cantidad de alcano que la solución se torne opalescente, después solidificación de la solución hasta obtener una masa vítrea a partir de (-)60 °C hasta (-)20 °C y eliminación del disolvente en alto vacío.

15 Preferentemente, el iloprost, ya purificado de sus impurezas, se somete a un tratamiento especial, éste se disuelve en acetona, luego se añade pentano hasta que la solución se vuelve opalescente, después la solución se enfría rápidamente a (-)60 °C donde el aceite precipita completamente de la solución de acetona-pentano y el precipitado obtenido se solidifica y se convierte en un sólido amorfo, vítreo y translúcido. Después de la solidificación, el iloprost se mantiene a (-)20 °C; durante este período, en el medio acetona-pentano, el sólido vítreo se transforma en un material sólido grueso de color blanco. Durante la solidificación, el disolvente se elimina varias veces mediante decantación y se añade n-pentano a la mezcla para disminuir el contenido de acetona.

20 Después de la última decantación, los disolventes se eliminan de la suspensión en alto vacío a (-)20 °C, en el que el producto se transforma en un polvo sólido.

A: Iloprost crudo (pureza disponible: 93 %)

30 El éster metílico de iloprost se disuelve en THF y se hidroliza con una solución de NaOH 1 M hasta el ácido. Después de la hidrólisis, el iloprost está en la fase acuosa alcalina en solución, en forma de su sal de sodio. La mezcla se extrae con éter metil terc-butílico para disminuir la cantidad de impurezas apolares, después se libera el iloprost de su sal de sodio con hidrogenosulfato de sodio y se extrae de la solución acuosa con éter metil terc-butílico. Después del secado de la fase orgánica y evaporación, el iloprost crudo se obtiene en forma de aceite, el cual no puede solidificarse, y pasar a su forma sólida, debido al alto nivel de impurezas. Pureza del iloprost crudo obtenido: 93 % (aceite).

40 Para la purificación del iloprost crudo, obtenido en el procedimiento de acuerdo con la invención, desarrollamos varios procedimientos:

Procedimiento de purificación		Producto		Suma de impurezas	
		Apariencia	Calidad	Relacionadas	No identificadas
B	1. cromatografía gravitacional	aceite	≥ 95,0 %	≤ 3,5 %	≤ 2,5 %
	2. solidificación				
C	1. cromatografía preparativa	polvo sólido	≥ 98,0 %	≤ 1,6 %	≤ 1,0 %
	2. filtración sobre gel de sílice				
	3. solidificación				
D	1. cromatografía gravitacional	polvo sólido (cristal)	≥ 98,5 %	≤ 1,6 %	≤ 0,5 %
	2. cromatografía preparativa				
	3. filtración sobre gel de sílice				
	4. solidificación				

55 B: Purificación de iloprost crudo mediante cromatografía gravitacional y solidificación (pureza alcanzada: 95,0 %)

60 El iloprost bruto se purifica mediante cromatografía gravitacional mediante el uso de mezclas de eluyentes de gradiente por etapas y gel de sílice irregular con un tamaño de partícula de 0,063-0,2 mm y un tamaño de poro de 60 Angström como relleno. El material se disuelve en acetona y después se añade tal cantidad de alcano hasta que esta se torna opalescente. La solución se vierte sobre la columna, se enjuaga con el eluyente y se eluye. Los eluyentes son mezclas de alcano:acetona, alcano:metiletilcetona, alcano:acetato de etilo o alcano:isopropanol, donde el alcano es n-pentano, n-hexano, ciclohexano o heptano.

65 El producto principal de la cromatografía gravitacional, después de la evaporación de los disolventes, tiene una pureza superior a 95,0 %, este producto ya es apto para la preparación de iloprost sólido mediante la aplicación de las técnicas que se describen a continuación.

5 El aceite de iloprost, purificado mediante cromatografía gravitacional, se disuelve en la misma cantidad de acetona (o acetato de etilo o metiletilcetona o isopropanol) que la masa del aceite, a la solución se añade tal cantidad de pentano normal (o hexano, o ciclohexano o heptano) hasta que esta se torna opalescente, la solución se almacena entonces a (-)60 °C, sin agitación. Después de 6 horas la solución solidifica en la forma de un producto vítreo. Este material vítreo solidificado se almacena luego a (-)20 °C por al menos 16 horas, en el que se transforma en una forma sólida gruesa de color blanco. La mayor parte del disolvente se elimina mediante decantación. Al final de la solidificación, el disolvente restante se elimina en alto vacío entre (-)10 °C y (-)30 °C.

10 El iloprost purificado obtenido es un polvo blanco con una pureza de 95,0 %.

C: Purificación de iloprost crudo mediante preparativo de HPLC, seguida por filtración sobre gel de sílice y solidificación (pureza alcanzada: 98,0 %)

15 El iloprost crudo se purifica directamente mediante el procedimiento de preparativo de HPLC. El material se disuelve en la misma cantidad de acetonitrilo que su masa y luego se añade agua. La solución se filtra a través de una precolumna de fase inversa hecha de gel de sílice C18 con un tamaño de partícula de 10 micras y un tamaño de poro de 120 Angström. La purificación de la solución madre filtrada se realiza mediante cromatografía líquida preparativa de alta presión, en fase inversa, mediante el uso de empaquetamiento C8 o C18 o empaquetamiento de resina de poliestireno y mezclas de agua y disolvente orgánico como eluyentes. El componente disolvente orgánico del eluyente es acetonitrilo, metanol, etanol o isopropanol.

20 La fracción principal combinada de la cromatografía se concentra a vacío a 40 °C, la solución concentrada se extrae con éter metil terc-butílico, la fase orgánica combinada se lava con una solución salina saturada, se seca sobre sulfato de sodio y se concentra a vacío a 30 °C.

25 A la solución concentrada se añade, primero acetona y después, con cuidado, hasta que ésta se torne opalescente, se añade n-pentano. La solución así obtenida se purifica después, adicionalmente, mediante cromatografía en fase normal mediante el uso de un lecho de gel de sílice irregular con un tamaño de partícula de 0,063-0,2 mm y un tamaño de poro de 60 Angström, y mezclas de gradiente por etapas de n-pentano:acetona como eluyente. La fracción principal se evapora en alto vacío (0,1 mbar) a 30 °C. El aceite de iloprost, filtrado a través de gel de sílice, se transforma en el producto sólido como se describe en el procedimiento B.

30 El iloprost, purificado mediante el procedimiento anterior, es un polvo blanco con una pureza de 98,0 %.

35 D: Purificación de iloprost crudo mediante cromatografía gravitacional y preparativo de HPLC, seguida por filtración sobre gel de sílice y solidificación.

40 El iloprost crudo se purifica mediante cromatografía gravitacional como se describe en el procedimiento B. El aceite de iloprost obtenido se purifica adicionalmente mediante el procedimiento de preparativo de HPLC como se describe en el procedimiento C. A la solución concentrada obtenida se añade acetona y después, con cuidado, hasta que ésta se torne ligeramente opalescente, n-pentano. La solución resultante después se purifica adicionalmente mediante cromatografía de fase normal en un lecho hecho de gel de sílice irregular con un tamaño de partícula de 0,063-0,2 mm y un tamaño de poro de 60 Angström, mediante el uso de mezclas en gradiente por etapas de n-pentano: acetona como eluyente. La fracción principal se evapora en alto vacío a 30 °C. El aceite de iloprost resultante filtrado a través de gel de sílice se transforma después en el producto sólido como se describe en el procedimiento B.

45 El iloprost, purificado mediante el procedimiento anterior, es un cristal blanco con una pureza de 98,5 %.

50 De los diastereómeros, separados mediante preparativo de HPLC, el 16(S)-iloprost puede cristalizarse. Preferentemente mediante disolución en acetona y precipitación con pentano, se separa en forma cristalina.

Otro objeto adicional de la invención, el 16(S)-iloprost en forma cristalina, es una novedad (*esta realización no está cubierta por las reivindicaciones*).

55 De acuerdo con lo anterior, mediante el procedimiento de acuerdo con la invención, pueden prepararse los siguientes: Isómero 16(S)-iloprost en fase cristalina.

60 Iloprost en fase oleosa o sólida en polvo, con una pureza de al menos 98,5 %, en el que la cantidad total de impurezas relacionadas no supera 1,6 %, la cantidad total de impurezas no identificadas no supera 0,5 % y la cantidad de impurezas no identificadas, cada una, no supera 0,1 %.

65 El Iloprost, en fase oleosa o sólida en polvo, con una pureza de al menos 98,5 % cumple los siguientes requisitos de calidad:

5

10

Impurezas relacionadas (HPLC)	
Isómeros Z de iloprost, total	≤ 0,60 %
otras impurezas, el total de las cuales	≤ 1,0 %
- 15-epi-Iloprost	≤ 0,10 %
- 15-oxo-Iloprost	≤ 0,20 %
- Éster metílico de Iloprost	≤ 0,20 %
- Éster etílico de Iloprost	≤ 0,05 %
- Dímero de Iloprost 1	≤ 0,10 %
- Dímero de Iloprost 2	≤ 0,10 %
- impurezas no identificadas, cada una	≤ 0,10 %

15

Iloprost de fase oleosa o sólida en polvo con una pureza de al menos 98,0 %, en el que la cantidad total de impurezas relacionadas no supera 1,6 %, la cantidad total de impurezas no identificadas no supera 1,0 % y la cantidad de impurezas no identificadas, cada una, no supera 0,1 %.

20

El iloprost, en fase oleosa o sólida en polvo, con una pureza al menos de 98,0 % satisface los siguientes requisitos de calidad:

25

30

Impurezas relacionadas HPLC)	
Isómeros Z de Iloprost, total	≤ 0,60 %
otras impurezas, el total de las cuales	≤ 1,0 %
- 15-epi-Iloprost	≤ 0,20 %
- 15-oxo-Iloprost	≤ 0,20 %
- Éster metílico de Iloprost	≤ 0,10 %
- Éster etílico de Iloprost	≤ 0,10 %
- Dímero de Iloprost 1	≤ 0,20 %
- Dímero de Iloprost 2	≤ 0,20 %
- impurezas no identificadas, cada una	≤ 0,10 %

35

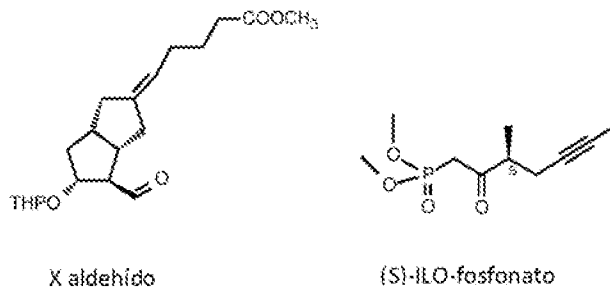
Iloprost de fase oleosa o sólida en polvo con una pureza de al menos 95,0 %, en el que la cantidad total de impurezas relacionadas no supera 3,5 % y la cantidad total de impurezas no identificadas no supera 2,5 %.

El 16(S)-iloprost en fase cristalina también puede prepararse por la ruta química demostrada,

40

m.) si el aldehído de fórmula X se transforma en el compuesto de fórmula (S)-XI mediante reacción con (S)-ILO-fosfonato en presencia de hidróxido de potasio sólido,

45



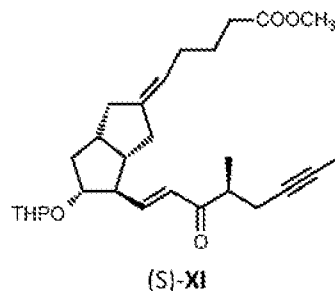
50

55

n.) el grupo oxo del compuesto obtenido de fórmula (S)-XI

60

65

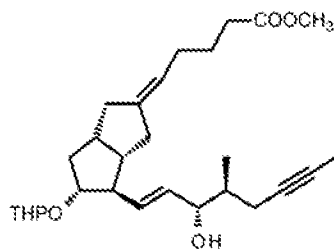


se reduce con DIBAL-F,

o.) el grupo protector tetrahidropiraniolo del compuesto de fórmula (S)-XII

5

10



15

(S)-XII

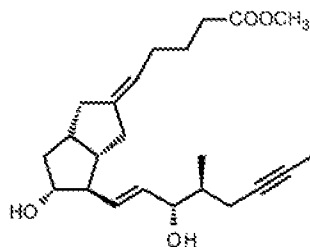
se escinde y el compuesto se purifica mediante cromatografía,

20

p.) el grupo éster del compuesto resultante de fórmula (S)-XIII

25

30



(S)-XIII

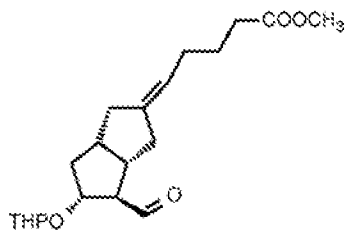
35

se elimina y el compuesto obtenido de fórmula (S)-I se purifica.

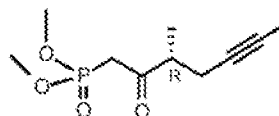
q.) Si el aldehído de fórmula X se transforma en el compuesto de fórmula (R)-XI mediante reacción con (R)-ILO-fosfonato en presencia de hidróxido de potasio sólido,

40

45



X aldehído



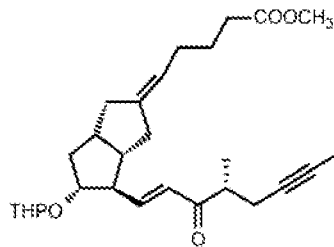
(R)-ILO-fosfonato

50

r.) el grupo oxo del compuesto obtenido de fórmula (R)-XI

55

60



(R)-XI

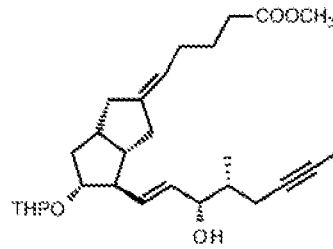
65

se reduce con DIBAL-F,

s.) el grupo protector tetrahidropiraniolo del compuesto de fórmula (R)-XII

5

10



15

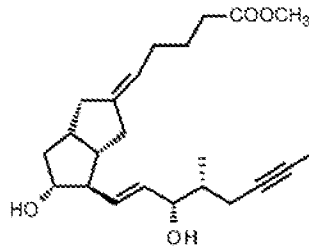
(R)-XII

se escinde y el compuesto se purifica mediante cromatografía,

20

t.) se elimina el grupo éster del compuesto resultante de fórmula (R)-XIII

25



30

(R)-XIII

35

y se purifica el compuesto obtenido de fórmula (R)-I, entonces también puede prepararse el isómero 16-(R)-iloprost.

Breve descripción de los dibujos/figuras

40

Figura 1: Patrón XRPD de iloprost (ejemplo 1m.)

Figura 2: Patrón XRPD de 16-(S)-iloprost (ejemplo 1n.)

Figura 3: Curva DSC de iloprost (pico: 67,58 °C, ejemplo 1m.)

45

Figura 4: Curva DSC de 16-(S)-iloprost (pico: 104,62 °C, ejemplo 1n.)

Figura 5: Datos de NMR ¹³C y ¹H de iloprost adquiridos a 500 MHz en DMSO (ejemplo 1m.)

50

Figura 6: Datos de NMR ¹³C y ¹H del compuesto de fórmula XI adquiridos a 500 MHz en DMSO (ejemplo 1h.)

Figura 7: Datos de NMR ¹³C y ¹H del compuesto de fórmula (S)-XI adquiridos a 500 MHz en DMSO (ejemplo 1o.)

Figura 8: Datos de NMR ¹³C y ¹H del compuesto de fórmula (S)-XII adquiridos a 500 MHz en DMSO (ejemplo 1p.)

55

Figura 9: Datos de NMR ¹³C y ¹H de 16-(S)-iloprost adquiridos a 500 MHz en DMSO (ejemplo 1n.)

Ejemplos

60

El objeto de la invención se detalla en los ejemplos, sin limitar las reivindicaciones a las variantes de procedimientos descritos en los ejemplos.

Condiciones de las mediciones aplicadas en los procedimientos de acuerdo con la invención:

Difracciones de rayos X:

65

Posición inicial [°2Theta]: 2,0074

Posición final [$^{\circ}$ 2Theta]: 39,9854

Temperatura de medición [$^{\circ}$ C]: 25,00

5 Material del ánodo: Cu

K-Alfa1 [L]: 1,54060

K-Alfa2 [L]: 1,54443

10 DSC:

Instrumento: METTLER TOLEDO DSC1 System STARe, Stare basic V9.30

15 Procedimiento:

Temperatura inicial: 30 $^{\circ}$ C

Temperatura final: 200 $^{\circ}$ C

20

Velocidad de calentamiento: 5 $^{\circ}$ C/minuto

Cantidad: 5-9 mg, crisol de aluminio perforado (40 μ l)

25 NMR:

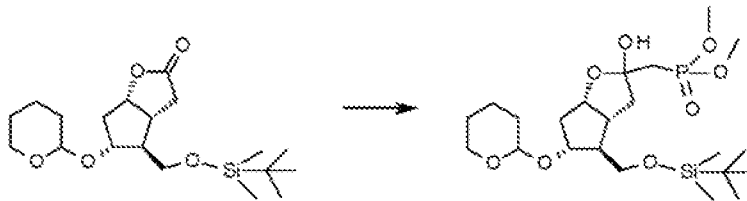
Instrumento: Bruker Avance III 500 MHz

Disolvente: DMSO

30

1a/ Preparación de éster dimetílico del ácido [[4-[[[(1,1-dimetiletil)dimetilsililoximetil]hexahidro-2-hidroxi-5-[(tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi]-2H-ciclopenta[b]furan-2-il]metil]fosfónico (III)

35



40

$C_{18}H_{34}O_5Si$

PM: 370,6

II

$C_{22}H_{40}O_8PSi$

PM: 494,6

III

45

En 50 l de tetrahydrofurano anhidro, bajo atmósfera inerte, se disuelven 4,2 l de metilfosfonato de dimetilo y la mezcla de reacción se enfría a (-)75 $^{\circ}$ C. Mientras se mantiene la temperatura prescrita, se añaden 22,5 l de n-butillitio en una solución de hexano 1,6 M, después se añaden 7,5 kg de II en 15 l de una solución de tetrahydrofurano anhidro. Al final de la reacción, la mezcla de reacción se inactiva con hidrogenosulfato de sodio 1 M. La mezcla de reacción inactiva se extrae con tolueno, la fase orgánica se lava con una solución de hidrogenocarbonato de sodio que contiene cloruro de sodio y la solución de tolueno se evapora a vacío a 50 $^{\circ}$ C.

50

55 Rendimiento: 9,6 kg (96 %), aceite.

1a/B).

Se prepara una solución de LDA: a 28,7 kg de tetrahydrofurano se añaden 5,8 kg de diisopropilamina, la solución se enfría a 0 ± 5 $^{\circ}$ C y después, en un período de 1 hora, bajo flujo de nitrógeno, agitación y enfriamiento de forma continua, se añaden 21 kg de una solución de butil-litio 1,6 M mientras se mantiene la temperatura a 0 ± 5 $^{\circ}$ C. Después de la adición se detiene el enfriamiento y la mezcla se agita a 5 ± 10 $^{\circ}$ C por 1 hora.

60

En un segundo aparato, en 32,3 kg de tetrahydrofurano se disuelven 7,5 kg de II, a la solución se añaden 4,2 l de metilfosfonato de dimetilo, la mezcla se enfría a (-)5 \pm 5 $^{\circ}$ C bajo flujo de nitrógeno y agitación, después la solución de LDA preparada previamente se añade a la mezcla mientras se mantiene la temperatura entre (-)5 $^{\circ}$ C y (+)5 $^{\circ}$ C.

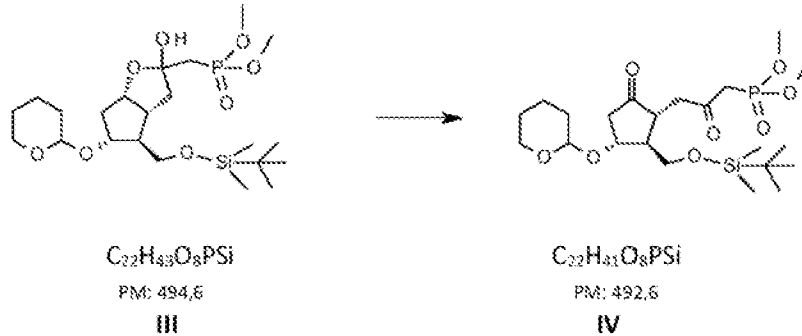
65

La reacción se sigue mediante TLC. Tiempo de reacción esperado: 60 minutos.

Al final de la reacción, la mezcla se transfiere mediante succión a una solución de hidrogenosulfato de sodio 1 M y se añade, a ésta, tolueno. La fase acuosa se extrae dos veces con tolueno, la fase orgánica combinada se lava secuencialmente con una solución de cloruro de sodio 15 % y una solución de hidrogenocarbonato de sodio 1 N. La fase orgánica se evapora a vacío.

Rendimiento (corregido al contenido de material seco): 9,6 kg (96 %). Aceite incoloro.

1b. Preparación de éster dimetílico del ácido [1R-(1 α ,2 β ,3 α)]-(3-(2-[[[1,1-dimetiletil]dimetilsilil]oxi]metil]-5-oxo-3-[(tetrahidro-2H-piran-2-il)oxilciclopentil]-2-oxopropil]fosfónico (IV)



Preparación del reactivo acetato de piridinio:

En 170 kg de diclorometano destilado se pesan 11,5 kg de piridina y, bajo agitación, se añaden 6,9 kg de ácido acético. La mezcla se enfría bajo agitación a 25 ± 5 °C.

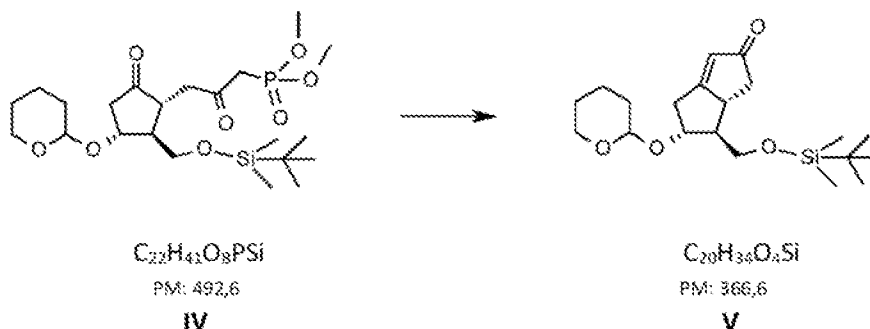
Hidrólisis y oxidación del cetal.

A la solución de acetato de piridinio se añaden 9,6 kg de III disueltos en 14 l de diclorometano. La mezcla se agita bajo atmósfera de nitrógeno.

Después de 30 minutos de agitación, se añaden 9,6 kg de dicromato de piridinio y la mezcla se agita a 25 ± 5 °C hasta que se alcanza la conversión prescrita. La reacción se sigue mediante TLC. Tiempo de reacción esperado: 24-48 horas. Cuando se alcanza la conversión deseada, la mezcla de reacción se calienta a 40 ± 5 °C, se agita por 30 minutos, se enfría a 25 ± 5 °C y después se añaden tolueno y perfil. Los materiales sólidos se eliminan mediante centrifugación. El filtrado el cual contiene el producto se lava con solución de hidrogenosulfato de sodio 2 M y se separan las fases. La fase acuosa se extrae con tolueno, la fase orgánica combinada se lava secuencialmente con una solución de hidrogenocarbonato de sodio que contiene cloruro de sodio y una solución de cloruro de sodio 20 %, se seca sobre sulfato de sodio y se concentra a vacío a 50 °C hasta el volumen definido. El residuo concentrado se purifica mediante cromatografía mediante el uso de una columna de gel de sílice y mezclas en gradiente por etapas del eluyente éter diisopropílico: acetona.

Rendimiento: 6,0 kg (62,8 %), aceite.

1c. Preparación de [5R-(5 α ,6 β , 6 α)]-6-[[[(1,1-dimetiletil) dimetilsililoximetil]-4,5,6, 6 α -tetrahidro-5-[(tetrahidro-2H-piran-2-il)oxil-2(1H)-pentalenona (V)



En 50 l de tolueno anhidro bajo atmósfera inerte se pesan 0,34 kg de 18-corona-6 y 3,4 kg de carbonato de potasio. La mezcla de reacción se calienta a 90 °C y se añaden a ésta 6 kg de IV en tolueno anhidro.

La mezcla de reacción se agita mientras se mantiene la temperatura. Después de alcanzar la conversión deseada, la mezcla se enfría a temperatura ambiente, se separa por filtración el carbonato de potasio y el filtrado se concentra a vacío a 45 °C.

Rendimiento: 4,4 kg (98,5 %), aceite. El producto oleoso puede usarse en la etapa siguiente sin purificación.

Si se desea, el producto puede purificarse mediante cromatografía mediante el uso de mezclas en gradiente de hexano: éter diisopropílico, rendimiento de la fracción principal: 2,23 kg de aceite (50 %).

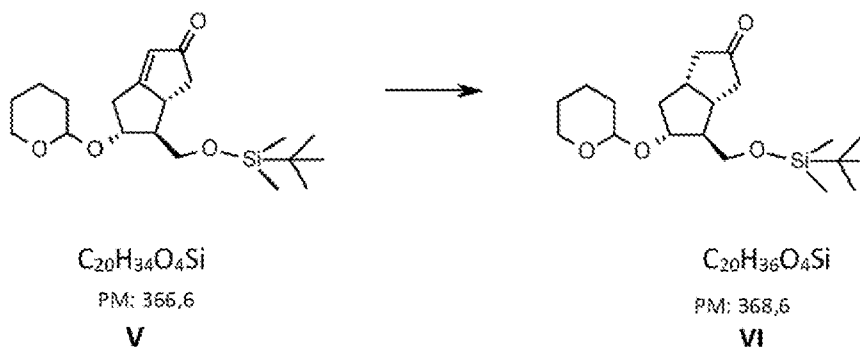
1d. Preparación de [3aS-(3aα4α.5β.6αα)]-4-[[[(1,1-dimetiletil)dimetilsilil]oxi]metil]hexahidro-5-[(tetrahidro-2H-piran-2-il)oxil-2(1H)-pentalenona (VI)

15

20

25

30



35

A 6,5 kg de V disueltos en 50 l de tolueno, se añaden 100 ml de trietilamina y la mezcla se hidrogena a temperatura ambiente, bajo una presión de 3,5 bar, mediante el uso de un catalizador de paladio sobre carbón que contiene 10 % de paladio. Al final de la reacción, el catalizador se filtra, se lava con tolueno y el filtrado se concentra a vacío a 45 °C. El residuo concentrado se purifica mediante cromatografía en columna de gel de sílice mediante el uso de mezclas de n-hexano: éter diisopropílico y éter diisopropílico: acetona como eluyentes. A la mezcla de disolvente de n-hexano: éter diisopropílico usada para la preparación de la columna, se añade una cantidad de 0,03 % en volumen de trietilamina.

40

Rendimiento: 1,5 kg (23 %), aceite.

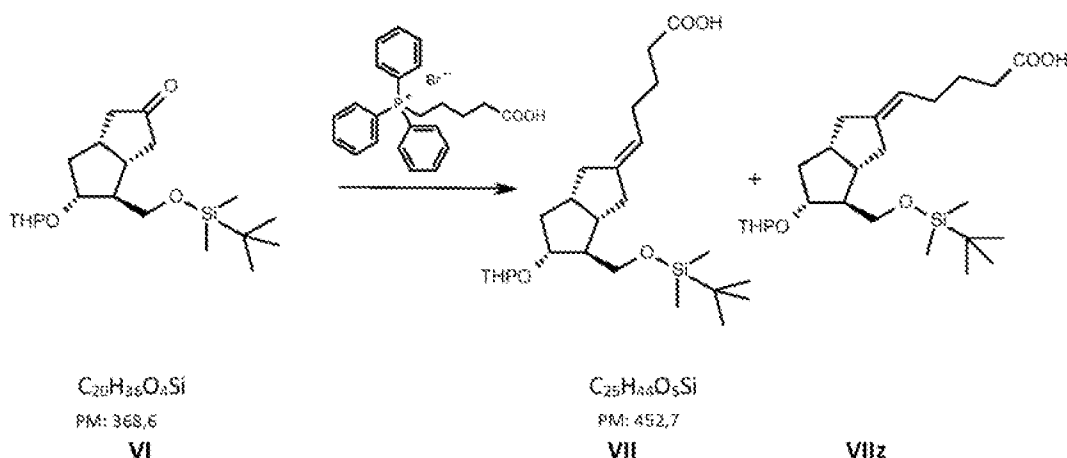
1e. Preparación de ácido [3aS-(2E,3aα4a,Sβ,6aa)]-5-[4-[[[(1,1-dimetiletil)dimetilsilil]oxi]metil]hexahidro-5-[(tetrahidro-2H-piran-2-il)oxil-2(1H)-pentaleniliden]pentanoico (VII)

45

50

55

60



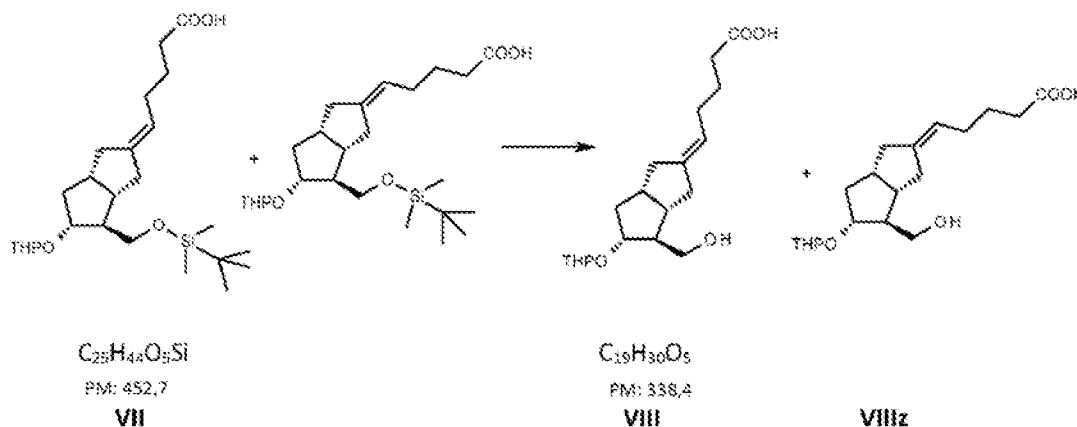
65

Se pesan 7,0 kg de bromuro de carboxibutiltrifenilfosfonio en 35 l de tetrahidrofurano anhidro, se enfría la mezcla de reacción a 5 °C y se añaden 3,8 kg de *tert*-butilato de potasio. La mezcla se agita a temperatura ambiente por 15 minutos, luego se enfría a 5 °C y se añade una solución de 1,7 kg de VI en 8 l de tetrahidrofurano. Se continúa la agitación mientras se mantiene la temperatura hasta alcanzar la conversión deseada, después se añade agua y la

mezcla se concentra a vacío a 45 °C. La mezcla de reacción concentrada se enfría a 10 °C, el material sólido precipitado se separa por filtración, el filtrado líquido se diluye con agua y se lava con una mezcla de metiletilcetona : n-hexano. El pH de la fase acuosa se ajusta a pH = 7-7,5 con una solución de hidrogenosulfato de sodio 1 N. La fase acuosa se extrae con éter diisopropílico. La fase orgánica se lava con una solución de cloruro de sodio 20 % y, después de la adición de trietilamina, ésta se evapora a vacío a 45 °C.

Rendimiento: 1,71 kg (82 %, mezcla de VII y VIIIz), aceite.

1f/A Preparación de ácido [3aS-(2E,3aα,4α,5β,6aα)]-5-[hexahidro-4-(hidroximetil)-5-[(tetrahidro-2H-piran-2-il)oxi]-2(1H)-pentaleniliden]pentanoico (VIII)



Se suspenden 3 kg de fluoruro de tetrabutilamonio trihidratado en 10 l de tolueno y se secan del agua mediante destilación del tolueno. La suspensión anhidra se enfría a 20 °C y se añaden 2,3 kg de VII disueltos en 24 l de tetrahidrofurano. La mezcla se agita a 60 °C. Cuando se alcanza la conversión deseada, se añaden agua, tolueno y trietilamina a la mezcla de reacción. Después de la agitación, se separan las fases, la fase acuosa se lava con tolueno y las fases orgánicas combinadas se extraen con agua. El pH de la fase acuosa combinada se ajusta a pH = 4-6 con una solución de hidrogenosulfato de sodio 1 M. La fase acuosa acidificada se extrae con éter diisopropílico. La fase orgánica combinada se lava con una solución de cloruro de sodio 20 % y, después de la adición de piridina, ésta se evapora a vacío a 45 °C. El residuo de la evaporación se seca del agua mediante destilación azeotrópica con tolueno y después se purifica mediante cromatografía.

Durante la purificación cromatográfica también se separa el isómero Z no deseado (VIIIz), después éste se somete a isomerización del doble enlace en un reactor UV.

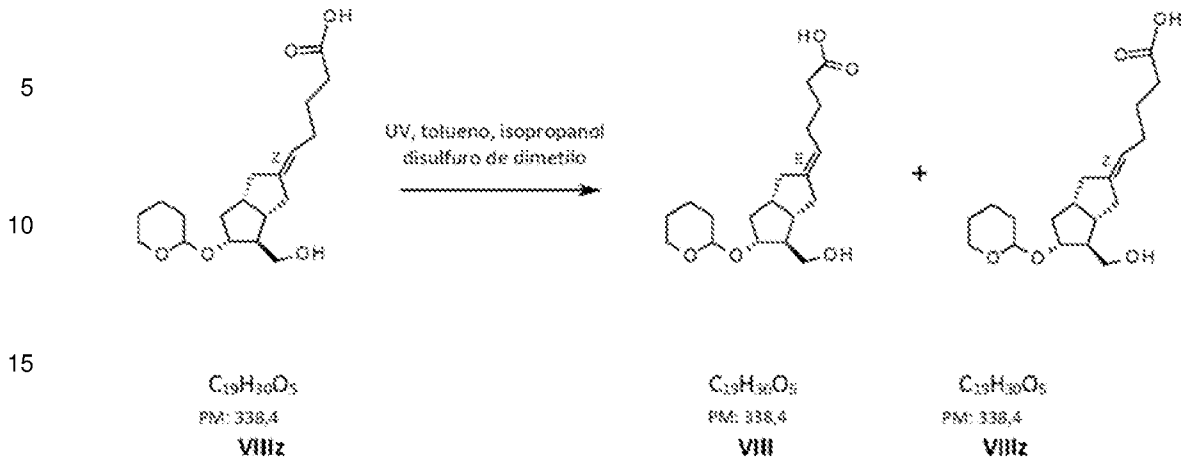
La elución de VIII y VIIIz se lleva a cabo mediante el uso de mezclas en gradiente por etapas de tolueno:éter metil terc-butílico. Las mezclas de eluyentes contienen piridina en una cantidad de 0,5 % por volumen.

Durante la cromatografía, el isómero Z no deseado se lava con acetona que contiene una cantidad de 0,2 % por volumen de ácido acético. A la fracción la cual contiene el isómero Z se añade trietilamina y la solución se concentra. Después, el concentrado se diluye con una cantidad 10 veces de éter metil terc-butílico y para eliminar las sales inorgánicas del producto éste se extrae con agua y con una solución salina saturada. Se evapora la fase orgánica (isómero VIIIz).

La fracción principal concentrada del compuesto VIII obtenida después de la purificación cromatográfica se extrae con una solución de carbonato de potasio 1 M, la fase orgánica combinada se lava con éter metil terc-butílico. El pH de la fase acuosa se ajusta a pH = 4-6 con una solución de hidrogenosulfato de sodio 1 M. La solución acidificada se extrae con éter metil terc-butílico. La fase orgánica combinada se lava con una solución de cloruro de sodio 20 % y, después de la adición de trietilamina, se evapora a vacío a 45 °C.

Rendimiento: 0,7 kg (41 %) VIII, aceite. Mediante el reciclado de VIIIz, pueden prepararse otros 0,41 kg de intermediario VIII, el rendimiento del intermediario VIII es así 65 %.

1f/B. Preparación de VIII por reciclado de VIIIz mediante irradiación UV.



20 El isómero VIIIz se isomeriza mediante irradiación UV y el VIII (isómero E) se prepara a partir de éste en una solución de tolueno en presencia de un sensibilizador de disulfuro de dimetilo. La reacción procede hasta que se alcanza la relación de equilibrio y resulta en una mezcla de relación 1:1. El tratamiento de la mezcla de reacción y la purificación se llevan a cabo mediante cromatografía en columna.

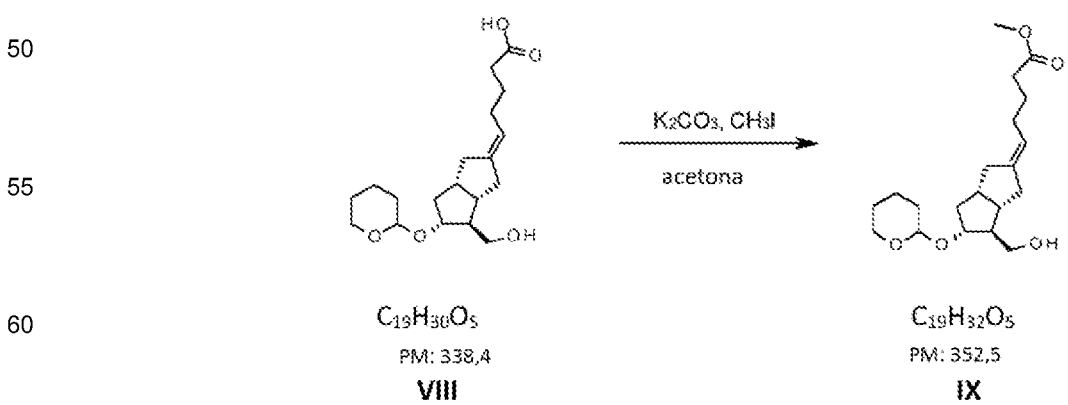
25 Irradiación:

La irradiación se realiza en un matraz de múltiples bocas bajo atmósfera de nitrógeno a 17-19 °C. En el matraz se pesan 0,99 kg de VIIIz, después se añaden 130,7 ml de metanol y 19,8 l de tolueno, y después de la disolución completa se añaden 99 ml de sensibilizador de disulfuro de dimetilo. Se inicia el enfriamiento, se enciende la lámpara de vapor de mercurio de presión media y se irradia la mezcla de reacción por 1,5 horas. La reacción se sigue cada 15 minutos mediante TLC. Cuando la relación de isómeros alcanza 50: 50 %, se termina la reacción. La solución se evapora a máx. 45 °C en un vacío de máx. 10 mbar. El residuo concentrado se purifica mediante cromatografía en columna.

35 La elución se lleva a cabo mediante el uso de mezclas en gradiente por etapas de tolueno:éter metil terc-butílico. Las mezclas de eluyentes contienen piridina en una cantidad de 0,5 % por volumen. La fracción principal evaporada de la purificación cromatográfica se extrae con una solución de carbonato de potasio 1 M, la fase acuosa combinada se lava dos veces con éter metil terc-butílico. El pH de la fase acuosa se ajusta a pH = 4-6 con una solución de hidrogenosulfato de sodio 1 M. La solución acidificada se extrae con éter metil terc-butílico. La fase orgánica combinada se lava con una solución de cloruro de sodio 20 % y, después de la adición de trietilamina, se evapora a vacío a 45 °C.

45 Rendimiento: 0,41 kg (41 %), aceite.

1g. Preparación de éster metílico del ácido {3 α S-(2E,3 α ,4,5,6 α)]-5-[hexahidro-4-(hidroximetil)-5[(tetrahidro-2H-piran-2-il)oxil-2(1H)-pentalenilidil] pentanoico (IX)



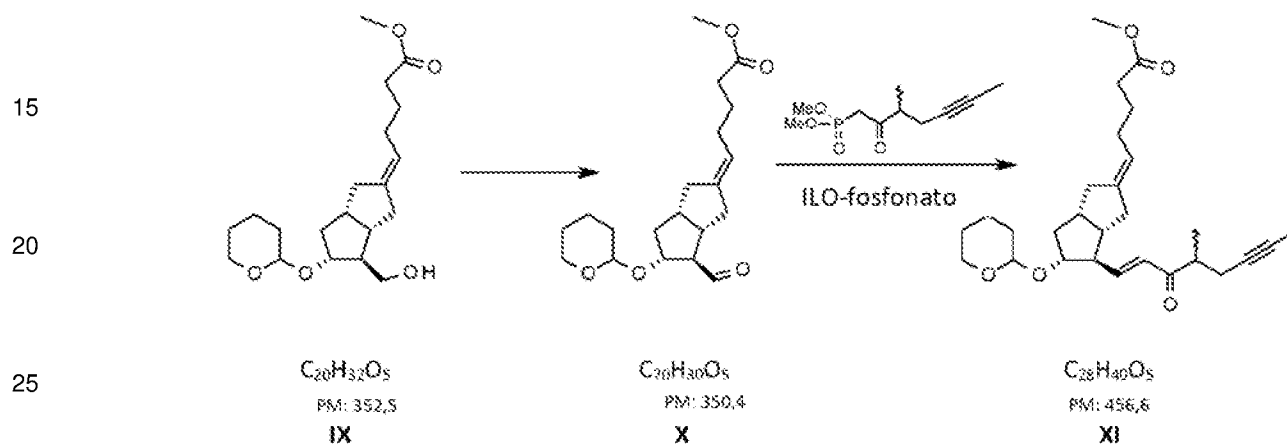
65 A la solución en acetona de 0,7 kg de VIII se añaden 0,75 kg de carbonato de potasio y 1,4 kg de yoduro de metilo, la mezcla se calienta a 45 °C y se agita a esta temperatura. Cuando se alcanza la conversión deseada, la mezcla de

reacción se enfría a temperatura ambiente, se diluye con agua y se extrae con éter metil terc-butílico. La fase orgánica combinada se lava con una solución de cloruro de sodio 20 % y después de añadir trietilamina ésta se evapora a vacío a 45 °C.

5 Rendimiento: 0,69 kg (95 %), aceite.

1h. Preparación de éster metílico del ácido (5E)-5-[(3aS,4R,5R,6aS)-5-[(tetrahydro-2H-piran-2-yl)oxi]-4-[(1E,3S,4RS)-4-metil-3-oxo-octen-6-in-1-il]hexahidropentalen-2(1H)-iliden]pentanoico (XI)

10 A. procedimiento: Oxidación de Pfitzner Moffatt seguida de reacción HWE en un solo recipiente



30 Se disuelven 282 g de IX en 1 l de tolueno destilado bajo atmósfera inerte. La mezcla de reacción se enfría a 13 °C, se disuelven 473 g de diciclohexilcarbodiimida en 1,5 l de tolueno y después se añaden 238 ml de ácido fosfórico 1 M en solución de DMSO. La reacción se calienta a 45 °C y se agita a esa temperatura. Después de alcanzar la conversión deseada, la mezcla de reacción que contiene el aldehído* X obtenido, se enfría a temperatura ambiente, y bajo atmósfera inerte se añaden 78 g de hidróxido de potasio y 218 g de ILO-fosfonato disueltos en 1 l de tetrahidrofurano. La reacción se agita mientras se mantiene la temperatura. Cuando se alcanza la conversión deseada, se añade perfil a la mezcla de reacción, después se filtra, el filtrado sólido se lava con tolueno y el filtrado líquido se concentra a vacío a 50 °C. El residuo concentrado, después de la adición de n-hexano, se purifica mediante cromatografía mediante el uso de una columna de gel de sílice y mezclas en gradiente por etapas de tolueno:éter diisopropílico. La fracción principal evaporada se purifica adicionalmente mediante cromatografía repetida.

40 Rendimiento: 282 g (77 %), aceite.

*si se desea, el aldehído X puede aislarse mediante purificación cromatográfica.

45 Los datos de NMR ^{13}C y 1H del compuesto de fórmula XI se muestran en la Figura 6.

B. procedimiento: oxidación por DMSO-ácido fosfórico y DIC, seguida de reacción HWE en un solo recipiente

50 Se disuelven 28 g de IX en 100 ml de tolueno destilado bajo atmósfera inerte. La mezcla de reacción se enfría a 13 °C, se añaden 50 g de diisopropilcarbodiimida disueltos en 150 ml de tolueno y 24 ml de ácido fosfórico 1 M en solución de DMSO. Después de la adición, la mezcla de reacción se calienta a 45 °C y se agita a esta temperatura. Después de alcanzar la conversión deseada, la mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente, bajo atmósfera inerte se añaden 8 g de hidróxido de potasio y 22 g de ILO-fosfonato disueltos en 100 ml de tetrahidrofurano. La reacción se agita mientras se mantiene la temperatura. Cuando se alcanza la conversión deseada, se añade perfil a la mezcla de reacción, después se filtra y el sólido filtrado se lava con tolueno. El filtrado líquido se concentra a vacío a 50 °C, el residuo, después de la adición de n-hexano, se purifica mediante cromatografía mediante el uso de una columna de gel de sílice y mezclas en gradiente por etapas de tolueno:éter diisopropílico. La fracción principal evaporada se purifica adicionalmente mediante cromatografía repetida.

60 Rendimiento: 27 g (74 %), aceite.

C. procedimiento: Oxidación de Anelli (TEMPO e hipoclorito de sodio)

65 La solución oxidante se prepara a partir de 100 ml de agua, 100 ml de solución de hipoclorito de sodio 5 % y 36 g de bicarbonato de sodio. El pH de la solución es $9,4 \pm 0,2$. Si el pH > 9,6 se ajusta con bicarbonato de sodio.

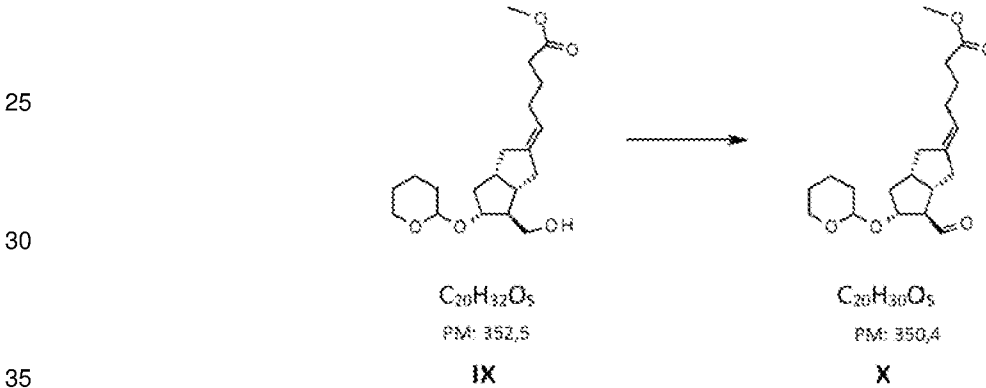
Se disuelven 6 g de IX en 70 ml de diclorometano (DCM), después se añaden 0,01 g de catalizador TEMPO y 0,2 g de bromuro de potasio. La mezcla se enfría a 0 °C y se añade la solución oxidante a una velocidad que mantiene la temperatura por debajo de 10 °C. Tiempo de reacción esperado 30 minutos.

5 Después, la mezcla de reacción se inactiva con una solución de tiosulfato de sodio 10 % y se agita a 10-15 °C por 30 minutos. La fase acuosa se extrae 3 veces con DCM. Las fases orgánicas se combinan y se lavan con una solución saturada de cloruro de sodio al 15 %.

10 Bajo atmósfera inerte, se añaden 20 ml de solución de hidróxido sódico 1 M y 4 g de ILO-fosfonato disueltos en 20 ml de tetrahidrofurano. La mezcla de reacción se agita mientras se mantiene la temperatura. Al final de la reacción se separan las fases, la fase orgánica se lava secuencialmente con solución de hidrogenosulfato de sodio 1 M, solución de cloruro de sodio 15 % y solución salina saturada. La fase orgánica se concentra a vacío a 45 °C. El residuo, después de la adición de n-hexano, se purifica mediante cromatografía mediante el uso de una columna de gel de sílice y mezclas en gradiente por etapas de tolueno:éter diisopropílico. La fracción principal evaporada se purifica adicionalmente mediante cromatografía repetida.

Rendimiento: 5,75 g (74 %), aceite.

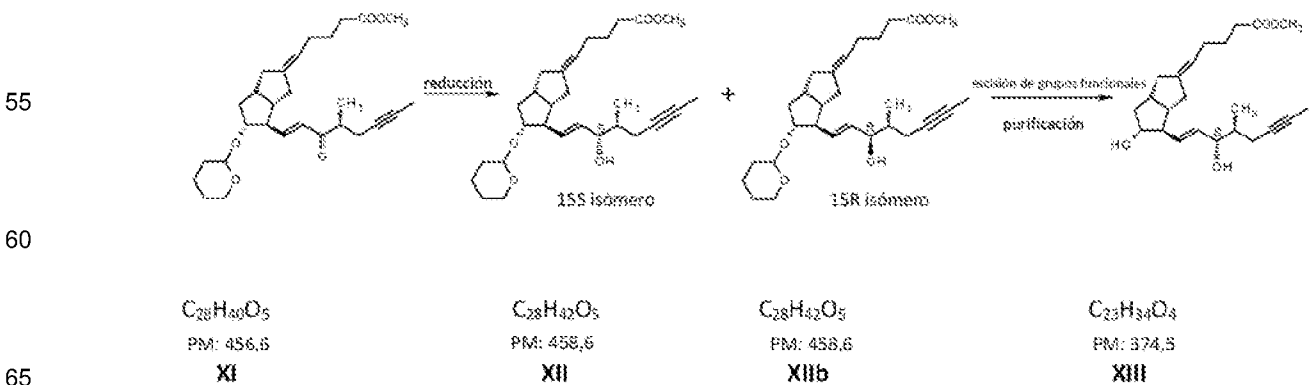
20 Preparación de éster metílico del ácido (5E)-5-Γ(3aS,4R,5R,6aS)-4-formil-5-tetrahidropiran-2-iloxi-3,3a,4,5,6,6a-hexahidro-1H-pentalen-2-iliden-1 pentanoico (X)

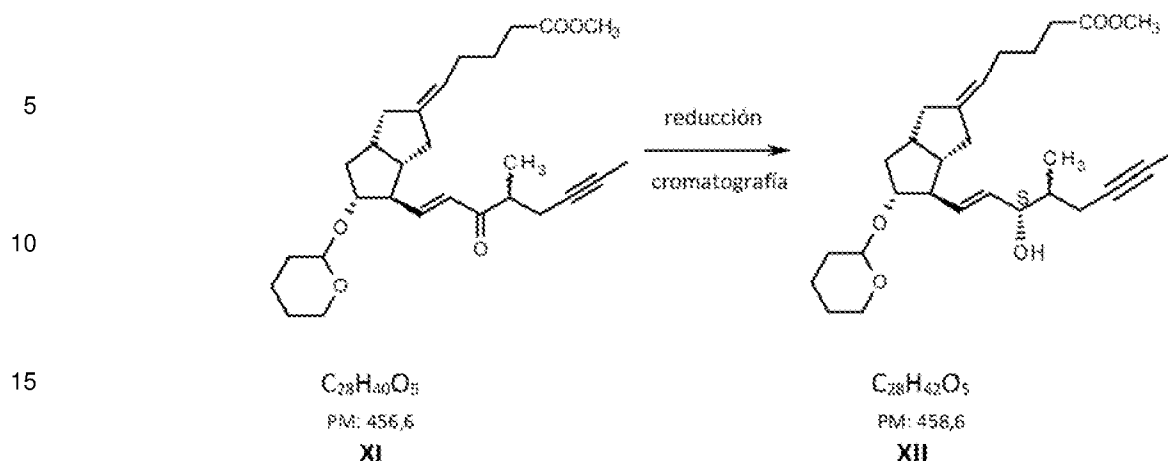


40 Se disuelven 28,2 g de IX en 100 ml de tolueno destilado bajo atmósfera inerte. La mezcla de reacción se enfría a 13 °C, después se añaden 47,3 g de dicitclohexilcarbodiimida disueltos en 150 ml de tolueno y 23,8 ml de ácido fosfórico 1 M en solución de DMSO. Después de la adición, la mezcla de reacción se calienta a 45 °C y se agita a esta temperatura. Después de alcanzar la conversión deseada, la mezcla de reacción se enfría a temperatura ambiente, se lava con agua (2 x 300 ml), la fase orgánica se seca de agua mediante concentración a vacío a 50 °C hasta aprox. 80 ml de volumen. El concentrado de tolueno se purifica mediante cromatografía mediante el uso de una columna de gel de sílice y mezclas de eluyentes de tolueno, tolueno: éter diisopropílico = 3:1 y 1:1. Las fracciones que contienen el aldehído X se combinan y se evaporan.

Rendimiento: 23,82 g (85 %).

50 1i. Preparación de (5E)-5-[(3aS,4R,5R)-5-hidroxi-4-[(E,3S)-3-hidroxi-4-metil-oct-1-en-6-inil]-3,3a,4,5,6,6a-hexahidro-1H-pentalen-2-iliden pentanoato de metilo (XIII)





20 Para preparar el reactivo DIBAL-F, 35 g de di-*tert*-butilmetilfenol se disuelven en 65 ml de tolueno destilado bajo
atmósfera inerte, a temperatura ambiente. A la solución obtenida se añade una solución en tolueno de 10,3 g de
hidruro de diisobutilaluminio (DIBAL-H). El reactivo se prepara a 0 °C, pero al final de la adición la mezcla de
reacción se agita por 1 hora a temperatura ambiente, después por 6 horas a 45 °C, bajo atmósfera inerte. La mezcla
de reactivos se enfría a 5 °C y bajo atmósfera inerte se añaden 9,4 g de XI en solución de tolueno. Durante la
adición la temperatura de la mezcla se eleva. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente hasta que se
alcanza la conversión deseada, después esta se inactiva con una solución de hidrogenosulfato de sodio 2 M. La
mezcla de reacción inactivada se extrae con tolueno. La fase de tolueno se concentra a vacío a 50 °C hasta
aproximadamente 30 ml. El residuo de tolueno concentrado se purifica mediante cromatografía mediante el uso de
una columna de gel de sílice y mezclas en gradiente por etapas de n-hexano:acetato de etilo. Se combinan las
fracciones que contienen el enol protegido XII y se evapora la fracción principal combinada.

Rendimiento: 7,22 g (76,5 %).

1j. Preparación de iloprost crudo

35 Se disuelven 43,1 g de XIII en 22 ml de tetrahidrofurano bajo atmósfera inerte a temperatura ambiente, después se
añaden 520 ml de solución de hidróxido de sodio 1 M, a una velocidad que la temperatura de la mezcla de reacción
se mantiene entre 20-30 °C. Después de alcanzar la conversión deseada, se separan las fases, la fase acuosa se
extrae dos veces con éter metil *tert*-butílico, las fases orgánicas se combinan y se lavan dos veces con solución de
hidróxido de sodio 1 M. La fase alcalina combinada se diluye con éter metil *tert*-butílico y, bajo agitación, el pH se
ajusta a $\text{pH} \leq 3$ con una solución de hidrogenosulfato de sodio 2 M. La fase acuosa acidificada se extrae con éter
metil *tert*-butílico, la fase orgánica combinada se lava con una solución de cloruro de sodio 20 % y se evapora a
vacío a 30 °C.

45 La pureza del producto es 93 %, la cantidad total de impurezas relacionadas no supera 5 %, la cantidad total de
otras impurezas no identificadas no supera 4 %.

A partir de este material no es posible preparar la forma sólida de iloprost debido al nivel de pureza detallado
anteriormente.

50 1k. Purificación de iloprost crudo mediante cromatografía gravitacional y solidificación Purificación de iloprost crudo,
procedimiento B.

55 Se disuelven 64,5 g de iloprost bruto en 25 ml de acetona destilada, a la solución se añaden aprox. 50 ml de n-
pentano hasta que esta se torna opalescente, después se purifica en una columna gravitacional empaquetada con
gel de sílice de fase normal Si60 (tamaño de partícula 0,063-0,2 mm), mediante el uso de mezclas de gradiente por
etapas de n-pentano: acetona. Las fracciones se combinan después de la investigación mediante TCL. La solución
de la fracción principal se filtra a través de una membrana de teflón de 5 micras y después se evapora a vacío a una
temperatura máx. del baño de 35 °C.

60 A 50 g del producto iloprost de fase cromatográfica se añaden 200 ml de acetona filtrada y destilada. La mezcla se
agita a 20-25 °C hasta su completa disolución, después, bajo agitación continua, se añaden a la solución 1.080 ml
de pentano filtrado, en el que el iloprost precipita completamente de la mezcla en forma de aceite.

65 La mezcla se enfría sin agitación hasta (-)60 °C, después de 6 horas esta se deja calentar hasta (-)20 °C y se
mantiene a esa temperatura sin agitación durante al menos 16 horas. Después se elimina el disolvente de la masa

ES 2 969 135 T3

crystalina oleosa mediante decantación, se vierten 650 ml de pentano filtrado sobre el producto y la masa cristalina se mantiene a (-)20 °C por un mínimo de 2 horas. El disolvente se elimina nuevamente por decantación.

5 El disolvente se elimina por destilación del producto en alto vacío a (-)30 °C, la temperatura se mantiene entre (-)20 - (-)30 °C. Durante la eliminación del disolvente, el producto sólido se agita de vez en cuando. La eliminación del disolvente se realiza bajo atmósfera inerte y esto demora aprox. 120 horas.

10 La pureza del producto es 95,0 %, la cantidad total de impurezas relacionadas no supera 3,5 %, la cantidad total de otras impurezas no identificadas no supera 2,5 %.

11. Purificación de iloprost crudo mediante preparativo de HPLC, seguida de filtración a través de gel de sílice y solidificación

15 Purificación de iloprost crudo, procedimiento C.

15 Se disuelven 64,5 g de iloprost crudo en 100 ml de acetonitrilo, a la solución se le gotea agua hasta que se alcanza la relación acetonitrilo: agua = 3:1. La solución madre se filtra a través de una precolumna hecha de 5 g de gel de sílice de fase inversa C18 con un tamaño de partícula de 10 micras y un tamaño de poro de 120 Angström. La purificación de la solución madre filtrada se lleva a cabo mediante cromatografía líquida preparativa de alta presión mediante el uso de 400 g de un empaquetamiento de gel de sílice de fase inversa C18 con un tamaño de partícula de 10 micras y un tamaño de poro de 120 Angström y mezclas de eluyentes de agua: acetonitrilo. La fracción principal combinada de la cromatografía se concentra a vacío a 40 °C, la solución concentrada se extrae con éter metil terc-butílico, la fase orgánica combinada se lava con una solución salina saturada, se seca sobre sulfato de sodio y se concentra a vacío a 30 °C hasta 100 ml. La solución concentrada se completa con acetona hasta 150 g, cuidadosamente se añade n-pentano hasta que esta se torna ligeramente opalescente. La solución obtenida se purifica adicionalmente mediante filtración a través de gel de sílice mediante el uso de mezclas en gradiente por etapas de n-pentano: acetona. La fracción principal se evapora a 30 °C en alto vacío.

30 A 50 g de producto de la fase de iloprost purificado mediante preparativo de HPLC y filtrado a través de gel de sílice, se añadieron 200 ml de acetona filtrada y destilada. La mezcla se agita a temperatura ambiente hasta su completa disolución, después se añaden 1.080 ml de pentano filtrado, en el que el iloprost precipita completamente de la mezcla, en forma de aceite.

35 La mezcla se enfría sin agitación hasta (-)60 °C, después de 6 horas esta se deja calentar hasta (-)20 °C y se mantiene a esa temperatura sin agitación durante al menos 16 horas. Después se elimina el disolvente de la masa cristalina oleosa mediante decantación, se vierten sobre esta 650 ml de pentano filtrado y la masa cristalina se mantiene a (-)20 °C por un mínimo de 2 horas. El disolvente se elimina nuevamente por decantación.

40 El disolvente se destila del producto en alto vacío a (-)30 °C, la temperatura se mantiene entre (-)20 - (-)30 °C. Durante esta eliminación del disolvente, el producto sólido se agita de vez en cuando. La eliminación del disolvente se realiza bajo atmósfera inerte y esto demora aprox. 120 horas.

45 La pureza del producto es 98,0 %, la cantidad total de impurezas relacionadas no supera 1,6 %, la cantidad total de otras impurezas no identificadas no supera 1,0 %.

	Impurezas relacionadas (HPLC)	
	Isómeros Z de Iloprost, total	≤ 0,60 %
	otras impurezas, el total de las cuales	≤ 1,0 %
50	- 15-epi-Iloprost	≤ 0,20 %
	- 15-oxo-Iloprost	≤ 0,20 %
	- Éster metílico de Iloprost	≤ 0,10 %
	- Éster etílico de Iloprost	≤ 0,10 %
	- Dímero de Iloprost 1	≤ 0,20 %
55	- Dímero de Iloprost 2	≤ 0,20 %
	- impurezas no identificadas, cada una	≤ 0,10 %

1m. Purificación de iloprost crudo mediante cromatografías gravitacional y preparativo de HPLC, filtración a través de gel de sílice y solidificación

60 Purificación de iloprost crudo, procedimiento D.

65 Se disuelven 80 g de iloprost crudo en 40 ml de acetona destilada, se añaden, aprox. 70 ml de n-pentano hasta que la solución se torna opalescente, después esta se purifica en una columna gravitacional empaquetada con gel de sílice de fase normal Si60 (tamaño de partícula 0,063-0,2 mm), mediante el uso de mezclas de gradiente por etapas de n-pentano: acetona. Las fracciones se combinan después de la investigación mediante TLC. La solución de la fracción principal se filtra a través de una membrana de teflón de 5 micras y se evapora a vacío a una temperatura

máx. del baño de 35 °C.

Se disuelven 60 g de producto de la fase de iloprost bruto purificado mediante cromatografía gravitacional en 110 ml de acetonitrilo y se añade agua a la solución hasta que se alcanza la relación acetonitrilo: agua = 3:1. La solución madre se filtra a través de una precolumna hecha de 5 g de gel de sílice de fase inversa C18 con un tamaño de partícula de 10 micras y un tamaño de poro de 120 Angström. La purificación de la solución madre filtrada se lleva a cabo mediante cromatografía líquida preparativa de alta presión mediante el uso de 400 g de un empaquetamiento de C18 de fase inversa de tamaño de partícula de 10 micras, con un tamaño de poro de 120 Angström y como eluyente mezclas de agua:acetonitrilo. La fracción principal combinada de la cromatografía se concentra a vacío a 40 °C, la solución concentrada se extrae con éter metil terc-butílico, la fase orgánica combinada se lava con una solución salina saturada, se seca sobre sulfato de sodio y se concentra hasta 100 ml a vacío a 30 °C. La solución concentrada se completa con acetona hasta 150 g, después se añade, cuidadosamente, n-pentano hasta que esta se torna ligeramente opalescente y después se filtra a través de gel de sílice. La fracción principal se evapora en alto vacío, a 30 °C.

A 50 g de producto de la fase de iloprost purificado mediante preparativo de HPLC y filtrado a través de gel de sílice, se añadieron 200 ml de acetona filtrada y destilada. La mezcla se agita a temperatura ambiente hasta su completa disolución, después se añaden 1.080 ml de pentano filtrado, en el que el iloprost precipita completamente de la mezcla, en forma de aceite.

La mezcla se enfría sin agitación hasta (-)60 °C, después de 6 horas esta se deja calentar hasta (-)20 °C y se mantiene a esa temperatura sin agitación durante al menos 16 horas. Después se elimina el disolvente de la masa cristalina oleosa mediante decantación, se vierten 650 ml de pentano filtrado sobre el producto y la masa cristalina se mantiene a (-)20 °C por un mínimo de 2 horas. El disolvente se elimina nuevamente por decantación.

El disolvente se destila del producto en alto vacío a (-)30 °C, con mantenimiento de la temperatura entre (-)20 - (-)30 °C. Durante la eliminación del disolvente, el producto sólido se agita de vez en cuando. La eliminación del disolvente se realiza bajo atmósfera inerte y esta toma aprox. 120 horas.

El producto sólido obtenido es un polvo que cristaliza al reposar.

La pureza del producto obtenido es 98,5 %, la cantidad total de impurezas relacionadas no supera 1,6 %, la cantidad total de otras impurezas no identificadas no supera 0,5 %.

El difractograma de polvo de rayos X se muestra en la Figura 1, la curva DSC en la Figura 3, los datos NMR de ¹³C y ¹H en la Figura 5.

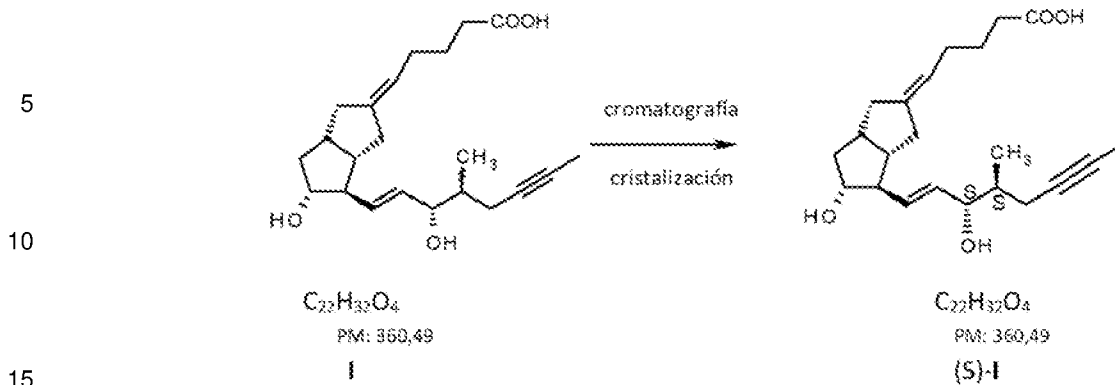
El patrón XRPD del producto contiene picos característicos en los siguientes valores (grados ± 0,2° 2-theta): 5,43, 7,51, 7,81, 15,19, 15,57, 15,85, 16,25, 16,84, 17,08, 17,26, 18,14, 18,59, 19,17, 20,32, 20,53, 21,69, 22,12, y 23,28

Impurezas relacionadas (HPLC)	
Isómeros Z de iloprost, total	≤ 0,60 %
otras impurezas, el total de las cuales	≤ 1,0 %
- 15-epi-Iloprost	≤ 0,10 %
- 15-oxo-Iloprost	≤ 0,20 %
- Éster metílico de Iloprost	≤ 0,20 %
- Éster etílico de Iloprost	≤ 0,05 %
- Dímero de Iloprost 1	≤ 0,10 %
- Dímero de Iloprost 2	≤ 0,10 %
- impurezas no identificadas, cada una	≤ 0,10 %

1n. Preparación de 16(S)-iloprost ((S)-I)

A: mediante separación cromatográfica y cristalización.

A1: cromatografía mediante el uso de una mezcla eluyente acetonitrilo: agua



20 Se disuelven 50 g de I crudo (contenido de (S)-I: 20 g) en 100 ml de acetonitrilo y se añade agua a la solución hasta que se alcanza la relación acetonitrilo: agua = 3:1. La solución madre se filtra a través de una precolumna hecha de 5 g de gel de sílice de fase inversa C18 con un tamaño de partícula de 10 micras y un tamaño de poro de 120 Angström. La purificación de la solución madre filtrada se lleva a cabo mediante cromatografía líquida preparativa de alta presión mediante el uso de 400 g de un empaquetamiento de gel de sílice de fase inversa C18 con un tamaño de partícula de 10 micras y un tamaño de poro de 120 Angström y mezclas de eluyentes de agua: acetonitrilo.

25 De los diastereómeros de iloprost, el diastereómero 16(S)-iloprost tiene mayor tiempo de retención. Mediante preparativo de HPLC puede separarse con buena eficiencia del diastereómero 16(R)-iloprost que eluye antes que este.

30 La fracción principal combinada de 16(S)-iloprost de la cromatografía se concentra a vacío a 40 °C, la solución concentrada se extrae con éter metil terc-butílico, la fase orgánica combinada se lava con una solución salina saturada y se seca sobre sulfato de sodio y se evaporó a vacío a 30 °C. El residuo se disuelve en 32 ml de acetona, después se añade, cuidadosamente, n-pentano hasta que la solución se torna ligeramente opalescente. La solución así obtenida se purifica adicionalmente mediante filtración a través de gel de sílice mediante el uso de mezclas en gradiente por etapas de n-pentano: acetona. La fracción principal se evapora en alto vacío a 30 °C.

35 A 15 g de producto de la fase 16(S)-iloprost purificado mediante preparativo de HPLC y filtrado a través de gel de sílice, se añadieron 15 ml de acetona filtrada y destilada. La mezcla se agita a temperatura ambiente hasta su completa disolución, después, bajo agitación de forma continua, se añaden 100 ml de pentano filtrado hasta que la solución se torna opalescente. La mezcla se enfría a (-) 40 °C y mientras se mantiene esa temperatura se agita bajo atmósfera inerte por 16 horas. El material cristalino precipitado se filtra.

40 El producto se seca a una temperatura entre (-)10 y (+)10 °C en alto vacío, bajo atmósfera inerte. El secado toma aprox. 120 horas.

45 La pureza del producto es 98,0 %, la cantidad total de impurezas relacionadas no supera 1,6 %, la cantidad total de otras impurezas no identificadas no supera 1,0 %.

El difractograma de polvo de rayos X se muestra en la Figura 2, la curva DSC en la Figura 4, los datos de NMR ¹³C y ¹H en la Figura 9.

50 El patrón XRPD del producto contiene picos característicos en los siguientes valores (grados ± 0,2° 2-theta): 7,46, 7,80, 12,69, 14,91, 15,58, 16,82, 17,27, 20,31, 20,62, 23,30, 28,13, 31,38, 32,05, 34,88, y 38,88.

A2: Cromatografía mediante el uso de mezcla eluyente metanol:2-propanol: agua

55 Se disuelven 64,5 g de crudo I en 100 ml de 2-propanol, a la solución se añade agua hasta que se alcanza la relación 2-propanol: agua = 1:1. La solución madre se filtra a través de una precolumna hecha de 5 g de gel de sílice de fase inversa C18 con un tamaño de partícula de 10 micras y un tamaño de poro de 120 Angström. La purificación de la solución madre filtrada se lleva a cabo mediante cromatografía líquida preparativa de alta presión mediante el uso de 400 g de un empaquetamiento de gel de sílice de fase inversa C18 con un tamaño de partícula de 10 micras y un tamaño de poro de 120 Angström y agua: metanol: 2-propanol como mezclas eluyentes.

60 La fracción principal combinada de la cromatografía se concentra a vacío a 40 °C, la solución concentrada se extrae con éter metil terc-butílico, la fase orgánica combinada se lava con una solución salina saturada, se seca sobre sulfato de sodio y se evapora a vacío a 30 °C. El residuo se disuelve en 32 ml de acetona y se añade cuidadosamente n-pentano hasta que la solución se vuelve ligeramente opalescente. La solución así obtenida se purifica adicionalmente mediante filtración a través de gel de sílice mediante el uso de mezclas en gradiente por

etapas de n-pentano: acetona. La fracción principal se evapora en alto vacío a 30 °C.

A 15 g de producto de la fase 16(S)-iloprost purificado mediante preparativo de HPLC y filtrado a través de gel de sílice, se añadieron 15 ml de acetona filtrada y destilada. La mezcla se agita a temperatura ambiente hasta su completa disolución, después se añaden 100 ml de pentano filtrado hasta que la solución se vuelve opalescente. La mezcla se enfría a (-)40 °C y mientras se mantiene esa temperatura se agita bajo atmósfera inerte por 16 horas. El material cristalino precipitado se filtra.

El producto se seca a una temperatura entre (-)10 y (+)10 °C en alto vacío, bajo atmósfera inerte. El secado toma aprox. 120 horas.

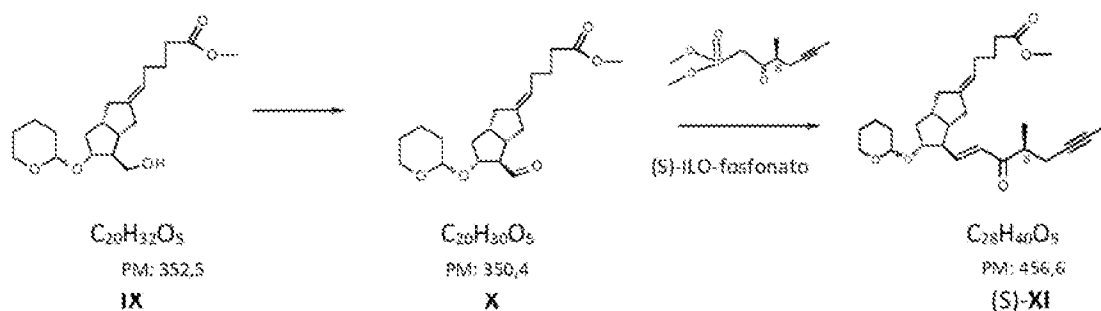
La pureza del producto es 98,0 %, la cantidad total de impurezas relacionadas no supera 1,6 %, la cantidad total de otras impurezas no identificadas no supera 1,0 %.

1o. Preparación de 16(S)-iloprost mediante síntesis química

Éster metílico del ácido (5E)-5-[(3aS,4R,5R,6aS)-5-[(tetrahydro-2H-piran-2-il)oxil-4[(1E,4S)-4-metil-3-oxo-octen-6-en-1-il]hexahidropentalen-2(1H)-iliden]pentanoico ((S)-XI)

B: mediante síntesis química

B1: Oxidación de Pfitzner Moffatt seguida de reacción HWE en un solo recipiente



Se disuelven 140 g de IX en 1 l de tolueno destilado bajo atmósfera inerte. La mezcla de reacción se enfría a 13 °C y se añade la solución de 235 g de diciclohexilcarbodiimida en 0,75 l de tolueno y 118 ml de ácido fosfórico 1 M en solución de DMSO. Después de la adición, la reacción se calienta a 45 °C y se agita a esta temperatura. Después de alcanzar la conversión deseada, la mezcla de reacción que contiene el aldehído X obtenido se enfría a temperatura ambiente, bajo una atmósfera inerte se añaden 39 g de hidróxido de potasio y 109 g de (S)-ILO-fosfonato (ópticamente activo) disueltos en 0,5 l de tetrahidrofurano. La mezcla de reacción se agita mientras se mantiene la temperatura. Cuando se alcanza la conversión deseada, se añade perfil a la mezcla de reacción, después se filtra, el sólido filtrado se lava con tolueno y el filtrado líquido se concentra a vacío a 50 °C. El residuo concentrado, después de la adición de n-hexano, se purifica mediante cromatografía mediante el uso de una columna de gel de sílice y mezclas en gradiente por etapas de tolueno: éter diisopropílico. La fracción principal evaporada se purifica adicionalmente mediante cromatografía repetida.

Rendimiento: 140 g (77 %), aceite.

Los datos de NMR ³C y ¹H del compuesto de fórmula (S)-XI se muestran en la Figura 7.

B2: Oxidación de Anelli (TEMPO e hipoclorito de sodio)

La solución oxidante se prepara a partir de 100 ml de agua, 100 ml de hipoclorito de sodio 5 % y 36 g de bicarbonato de sodio. El pH de la solución es 9,4 ± 0,2. Si el pH > 9,6 se ajusta con bicarbonato de sodio.

Se disuelven 6 g de IX en 70 ml de diclorometano (DCM), después se añaden 0,01 g de catalizador TEMPO y 0,2 g de bromuro de potasio. La mezcla se enfría a 0 °C y se añade la solución oxidante a una velocidad que mantiene la temperatura por debajo de 10 °C. El tiempo de reacción esperado es 30 minutos.

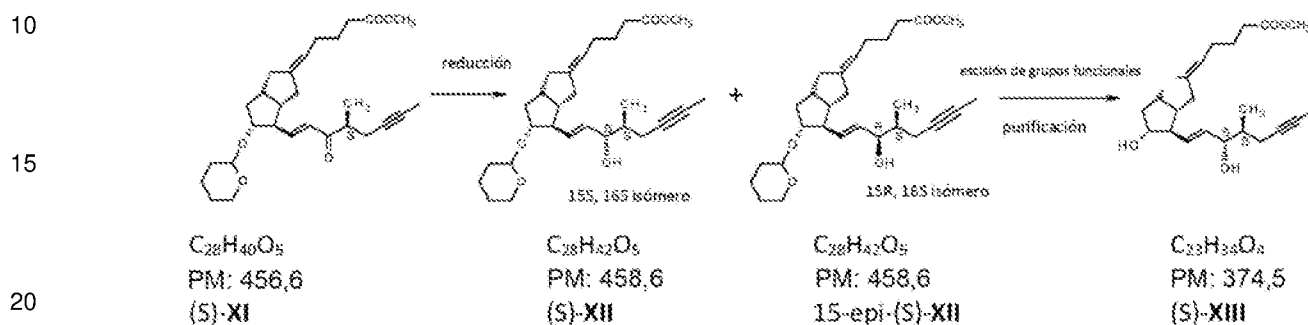
Después, la mezcla de reacción se inactiva con una solución de tiosulfato de sodio 10 % y se agita a 10-15 °C por 30 minutos. La fase acuosa se extrae 3 veces con DCM. Las fases orgánicas se combinan y se lavan con una solución saturada de cloruro de sodio al 15 %.

Bajo atmósfera inerte, se añaden 20 ml de solución de hidróxido sódico 1 M y 4 g de (S)-ILO-fosfonato disueltos en 20 ml de tetrahidrofurano. La reacción se agita mientras se mantiene la temperatura. Al final de la reacción se separan las fases, la fase orgánica se lava secuencialmente con solución de hidrogenosulfato de sodio 1 M, solución de cloruro de sodio 15 % y solución salina saturada. La fase orgánica se concentra a vacío a 45 °C. El residuo,

después de la adición de n-hexano, se purifica mediante cromatografía mediante el uso de una columna de gel de sílice y mezclas en gradiente por etapas de tolueno: éter diisopropílico. La fracción principal evaporada se purifica adicionalmente mediante cromatografía repetida.

5 Rendimiento: 5,75 g (74 %), aceite.

1p. Preparación de (5E)-5-[(3aS,4R,5R)-5-hidroxi-4-[(E,3S,4S)-3-hidroxi-4-metil-oct-1-en-6-inil]-3,3a,4,5,6,6a-hexahidro-1H-pentalen-2-iliden]pentanoato de metilo ((S)-XII)



25 Para preparar el reactivo DIBAL-F 350 g de di-*tert*-butilmetilfenol se disuelven en 650 ml de tolueno destilado a temperatura ambiente, bajo atmósfera inerte, y a la solución obtenida se añade la solución en tolueno de 102,8 g de hidruro de diisobutilaluminio (DIBAL-H). El reactivo se prepara a 0 °C, pero al final de la adición la mezcla de reacción se agita por 1 hora a temperatura ambiente, después por 6 horas a 45 °C, bajo atmósfera inerte. Después se enfría la mezcla de reactivos a 5 °C y bajo atmósfera inerte se añaden 94 g de (S)-XI en solución de tolueno. Durante la adición la temperatura se eleva. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente hasta que se alcanza la conversión deseada, después se inactiva con una solución de hidrogenosulfato de sodio 2 M. La mezcla de reacción inactiva se extrae con tolueno para obtener los isómeros de enol protegidos (S)-XII* y 15-epi-(S)-XII los cuales se hacen reaccionar a continuación sin aislamiento. A la fase orgánica combinada se añade la solución en metanol de 7,05 g de ácido p-toluenosulfónico. La mezcla de reacción se agita a temperatura ambiente. Cuando se alcanza la conversión deseada, el pH de la mezcla de reacción se ajusta a pH $\geq 7,5$ con trietilamina y se concentra a vacío a 45 °C. El residuo se disuelve en n-hexano y se purifica mediante cromatografía mediante el uso una columna de gel de sílice y mezclas en gradiente por etapas de n-hexano: acetato de etilo.

30

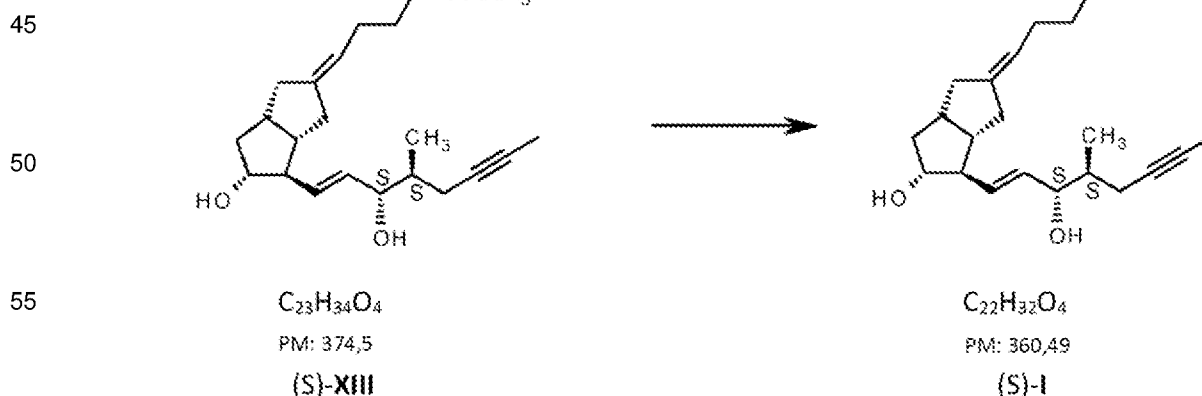
35

Rendimiento: 43,1 g (56 %), aceite.

*Si se desea, el enol protegido (S)-XII puede aislarse mediante purificación cromatográfica.

40

Los datos de NMR ^{13}C y 1H del compuesto de fórmula (S)-XII se muestran en la Figura 8. Preparación de 16(S)-iloprost crudo



60 Se disuelven 43,1 g de (S)-XIII en 50 ml de tetrahidrofurano a temperatura ambiente, bajo atmósfera inerte. A la solución se añaden 520 ml de solución de hidróxido de sodio 1 M a una velocidad tal que la temperatura de la mezcla de reacción permanece entre 20-30 °C. Después de alcanzar la conversión deseada, se separan las fases, la fase acuosa se extrae dos veces con éter metil *tert*-butílico, las fases orgánicas se combinan y se lavan dos veces con solución de hidróxido de sodio 1 M. La fase alcalina combinada se diluye con éter metil *tert*-butílico y, bajo agitación, el pH se ajusta a pH ≤ 3 con una solución de hidrogenosulfato de sodio 2 M. La fase acuosa acidificada se extrae con éter metil *tert*-butílico, la fase orgánica combinada se lava con una solución de cloruro de

65

sodio 20 % y se evapora a vacío a 30 °C.

La pureza del producto es 93 %, la cantidad total de impurezas relacionadas no supera 5 %, la cantidad total de otras impurezas no identificadas no supera 4 %.

5

La pureza de este material ya permite preparar el 16(S)-iloprost sólido.

Purificación de 16 (S)-iloprost crudo mediante cromatografía gravitacional y cristalización.

10 Se disuelven 40,2 g de 16(S)-iloprost bruto en 60 ml de acetona y se añade, cuidadosamente, n-pentano hasta que la solución se torna ligeramente opalescente. La solución obtenida se purifica mediante filtración a través de gel de sílice mediante el uso de mezclas en gradiente por etapas de n-pentano: acetona. La fracción principal se evapora en alto vacío a 30 °C.

15 A 37 g de producto de fase 16(S)-iloprost, filtrado a través de gel de sílice, se le añadieron 12 ml de acetona filtrada y destilada. La mezcla se agita a temperatura ambiente hasta su completa disolución, después, bajo agitación de forma continua, se añaden 90 ml de pentano filtrado hasta que la solución se torna opalescente. La mezcla se enfría a (-)40 °C y mientras se mantiene esa temperatura se agita bajo atmósfera inerte por 16 horas. El material cristalino precipitado se filtra.

20

El producto se seca en alto vacío a una temperatura entre (-)10 °C y (+)10 °C bajo atmósfera inerte. El secado toma aprox. 120 horas.

25

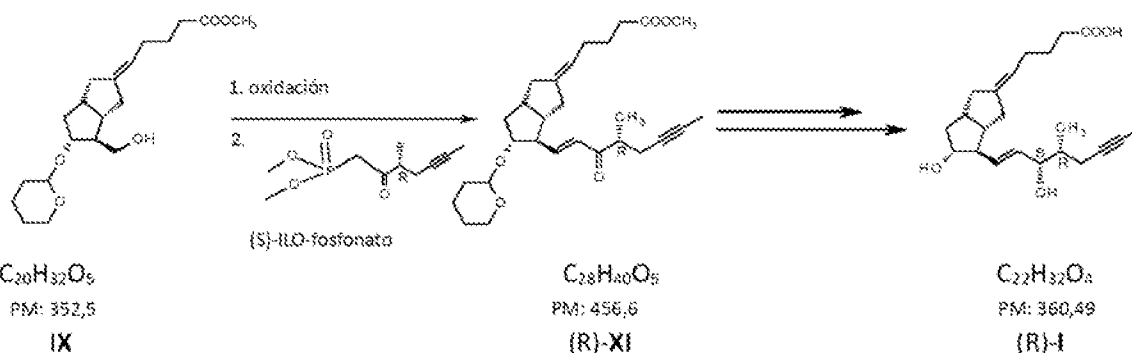
La pureza del producto es 98,0 %, la cantidad total de impurezas relacionadas no supera 1,6 %, la cantidad total de otras impurezas no identificadas no supera 1,0 %.

1q. Preparación de (R)-iloprost ((R)-I) mediante síntesis química

30

35

40



A

parti

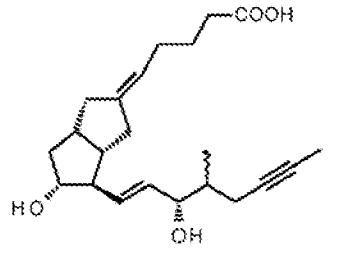
45 r de la solución en tolueno de 140 mg de (R)-IX, al llevar a cabo las etapas químicas descritas anteriormente mediante el uso de (R)-ILO-fosfonato, se prepararon 51,1 mg de 16(R)-iloprost.

REIVINDICACIONES

1. Procedimiento para la preparación de iloprost de fórmula I

5

10

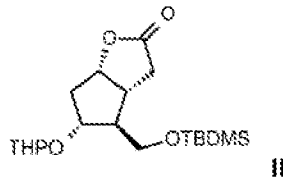


15

de manera que

a.) La lactona de Corey de fórmula II

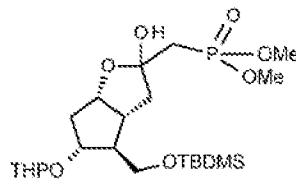
20



25

se alquila selectivamente con metilfosfonato de dimetilo en presencia de dialquilamida de litio,
b.) el anillo del lactol resultante de fórmula III

30



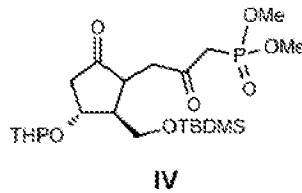
35

40

se abre con acetato de piridinio en un medio ácido suave, después el grupo hidroxilo secundario obtenido se
oxida con dicromato de piridinio,

45

c.) el compuesto resultante de fórmula IV

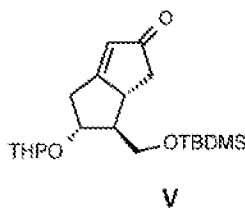


50

55

se hace reaccionar con carbonato de potasio en presencia del reactivo 18-corona-6,
d.) el compuesto obtenido de fórmula V

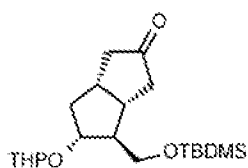
60



65

se reduce,
e.) el compuesto resultante de fórmula VI

5

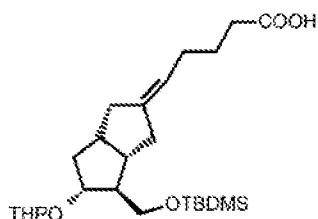


VI

10

se hace reaccionar con bromuro de carboxibutiltrifenilfosonio en presencia de terc-butilato de potasio, f.) el grupo protector TBDMS de los isómeros obtenidos E y Z de fórmula VII

15



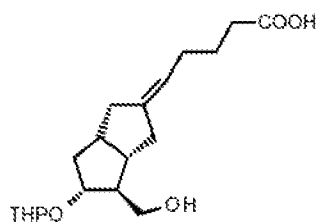
VII

20

25

se elimina, los isómeros se separan mediante cromatografía gravitacional, si se desea, el isómero Z (VIIIZ) se isomeriza en el isómero E, g.) el compuesto resultante de fórmula VIII

30



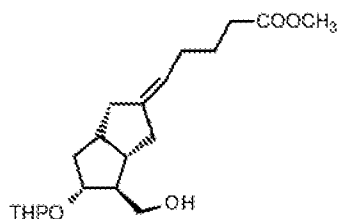
VIII

35

40

se esterifica, h.) el compuesto obtenido de fórmula IX

45



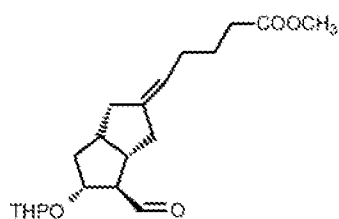
IX

50

55

se oxida, i.) el compuesto resultante de fórmula X

60

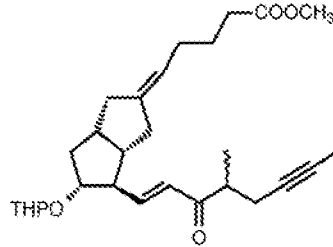


65

se transforma en la reacción HWE en presencia de hidróxido de potasio sólido en el compuesto de fórmula XI,
 j.) el grupo oxo del compuesto de fórmula XI así obtenido

5

10

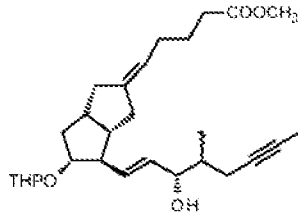


XI

se reduce con DIBAL-F,
 k.) el grupo protector tetrahidropiraniolo del compuesto de fórmula XII

20

25

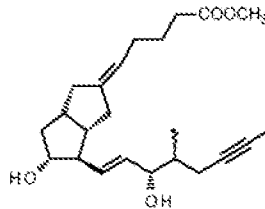


XII

se elimina y el compuesto se purifica mediante cromatografía en columna gravitacional, si se desea se purifica adicionalmente mediante preparativo de HPLC,
 l.) el grupo éster del compuesto de fórmula XIII

35

40



XIII

45

se elimina y el compuesto obtenido de fórmula I se purifica.

50

55

60

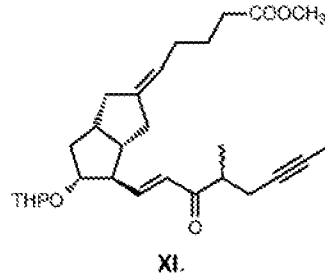
65

2. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la dialquilamida de litio es diisopropilamida de litio o dicitclohexilamida de litio en la etapa a).
3. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en el que la reacción de la etapa c) se lleva a cabo en alta dilución, preferentemente en una dilución de 30-45 veces, a alta temperatura, preferentemente a 90-110 °C.
4. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que la reacción de la etapa c) se lleva a cabo de manera que la solución del compuesto de fórmula IV se añade gota a gota a la solución en reflujo de los reactivos.
5. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en el que la eliminación del grupo protector sililo en la etapa f) se realiza con fluoruro de tetrabutilamonio trihidratado.
6. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en el que la separación de los isómeros E y Z en la etapa f) se lleva a cabo mediante la aplicación de mezclas de eluyentes en gradiente por etapas, mediante el uso como eluyente de una mezcla de tolueno: éter metil terc-butílico.
7. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en el que la isomerización del isómero Z

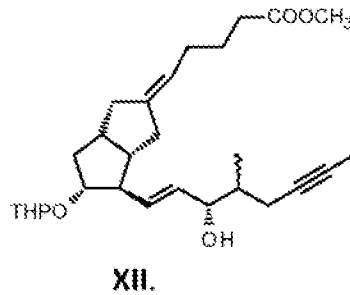
en la etapa f) se lleva a cabo mediante irradiación en presencia de un sensibilizador de disulfuro de dimetilo.

8. Procedimiento de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en el que la oxidación de la etapa h) se lleva a cabo mediante oxidación de Pfitzner-Moffatt con una mezcla de ácido fosfórico-DMSO que contiene DCC o DIC, o mediante oxidación de Anelli (hipoclorito de sodio, catalizador TEMPO).

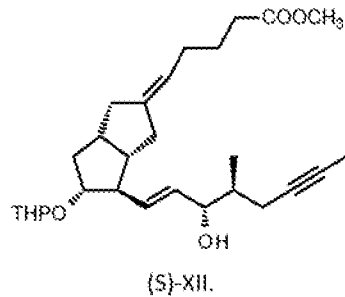
9. El compuesto de fórmula XI



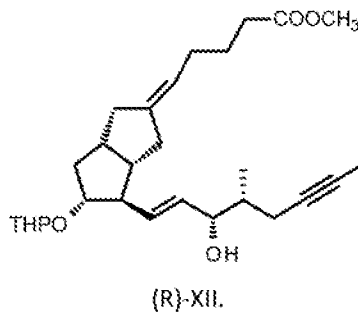
10. El compuesto de fórmula XII



11. Compuesto de fórmula (S)-XII



12. Compuesto de fórmula (R)-XII

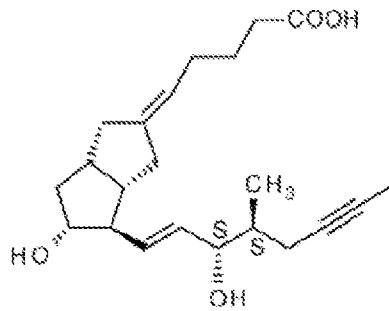


13. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, donde el iloprost es 16(S)-iloprost

65

5

10



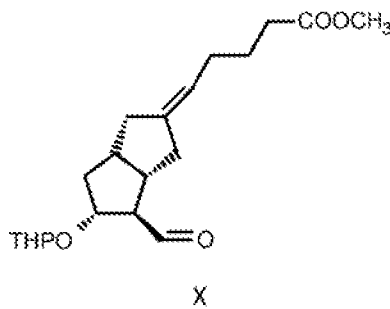
16(S)-iloprost

15

y el procedimiento que comprende que el compuesto de fórmula X

20

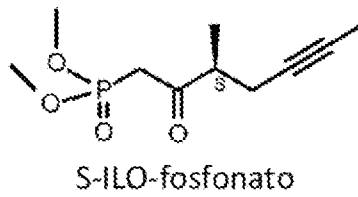
25



30

se hace reaccionar con (S)-ILO-fosfonato

35

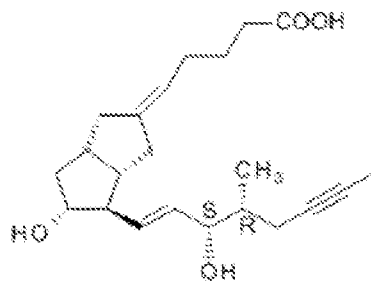


40

14. Procedimiento de acuerdo con la reivindicación 1, donde el iloprost es 16(R)-iloprost

45

50



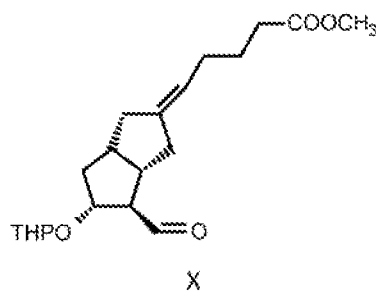
16(R)-iloprost

55

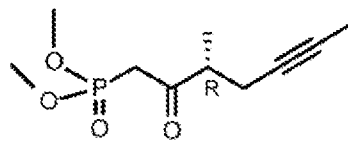
y el procedimiento que comprende que el compuesto de fórmula X

60

65



se hace reaccionar con (R)-ILO-fosfonato



R-ILO-fosfonato.

Figura 1

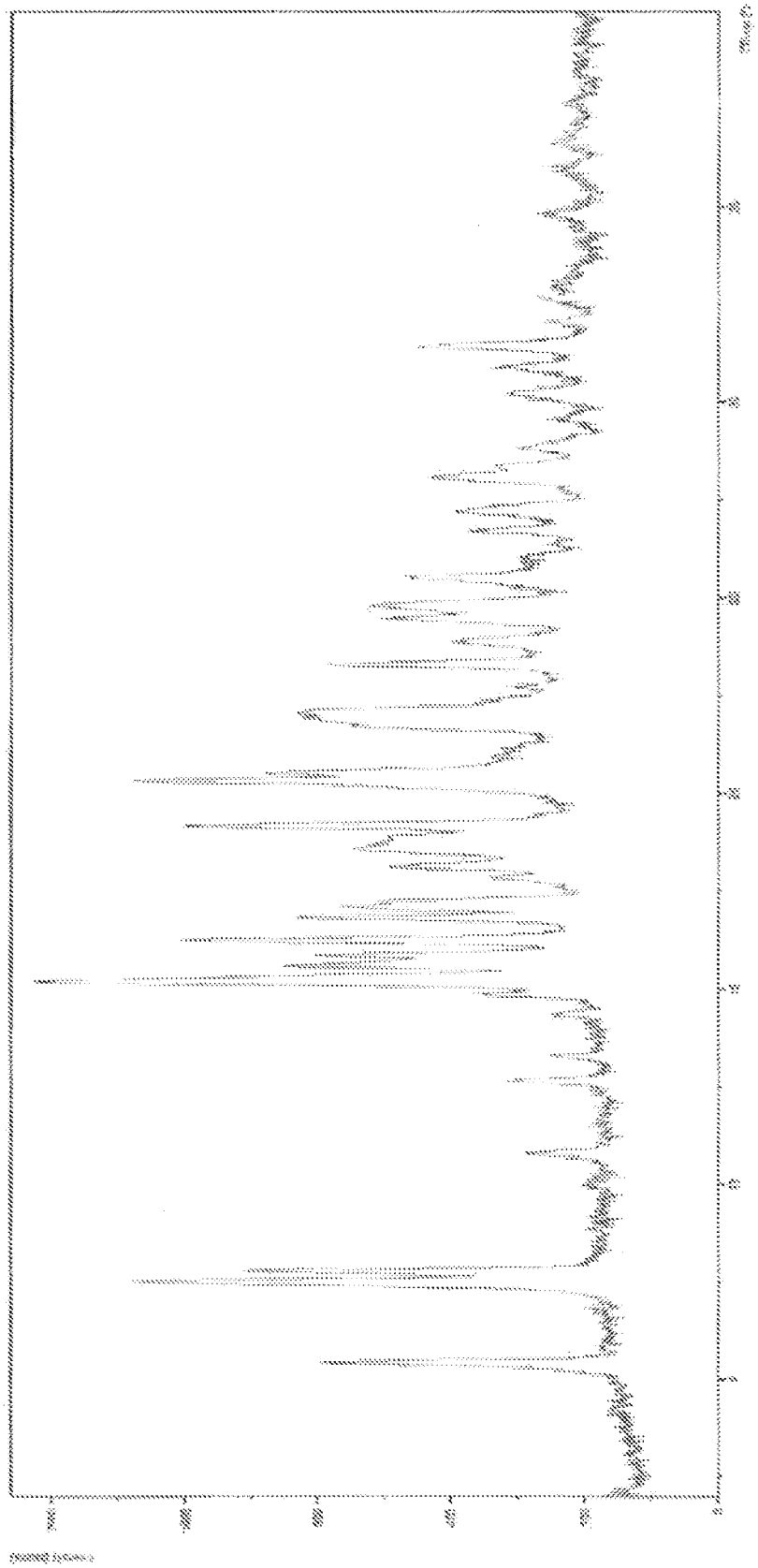


Figura 2

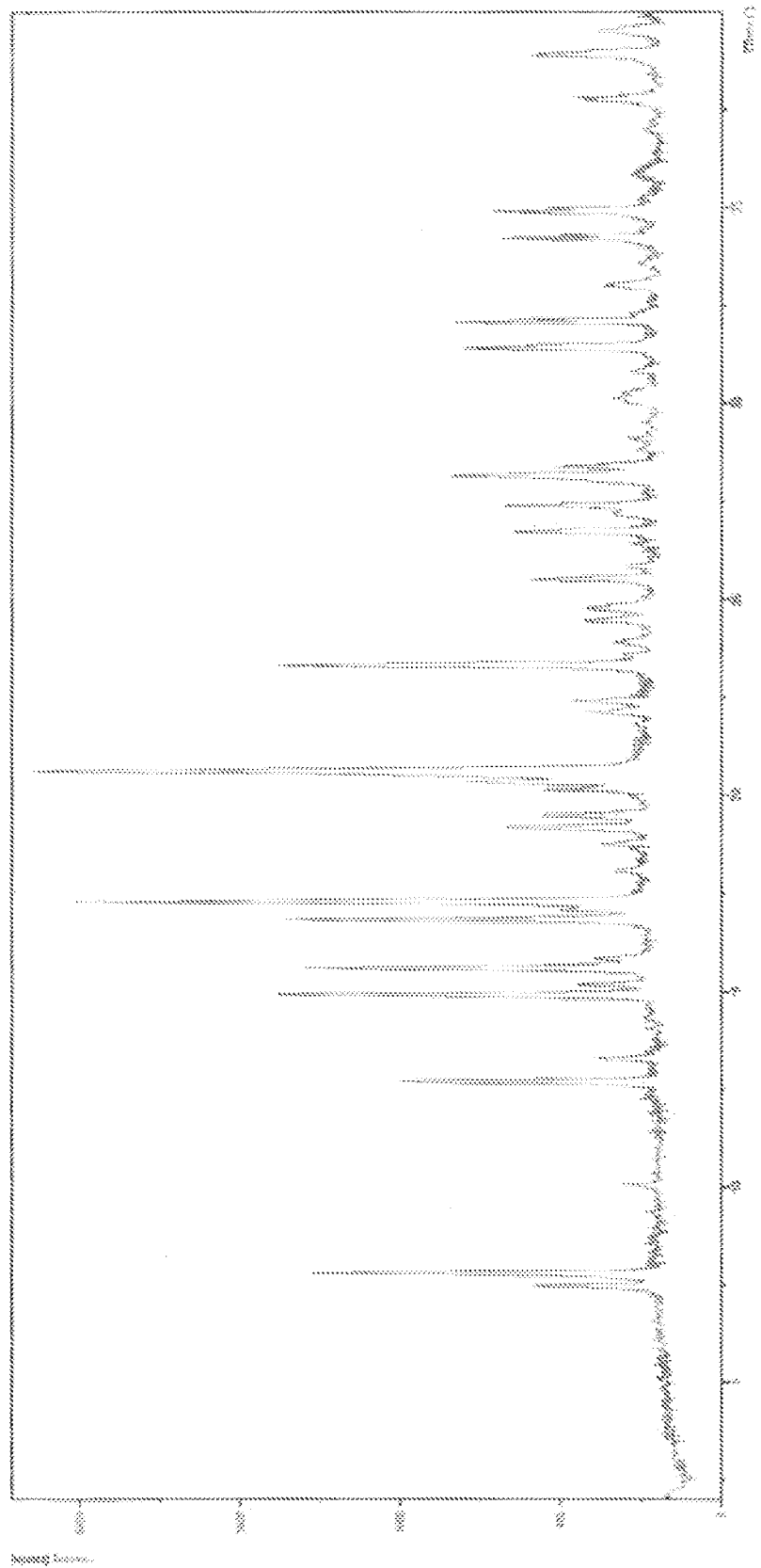


Figura 3

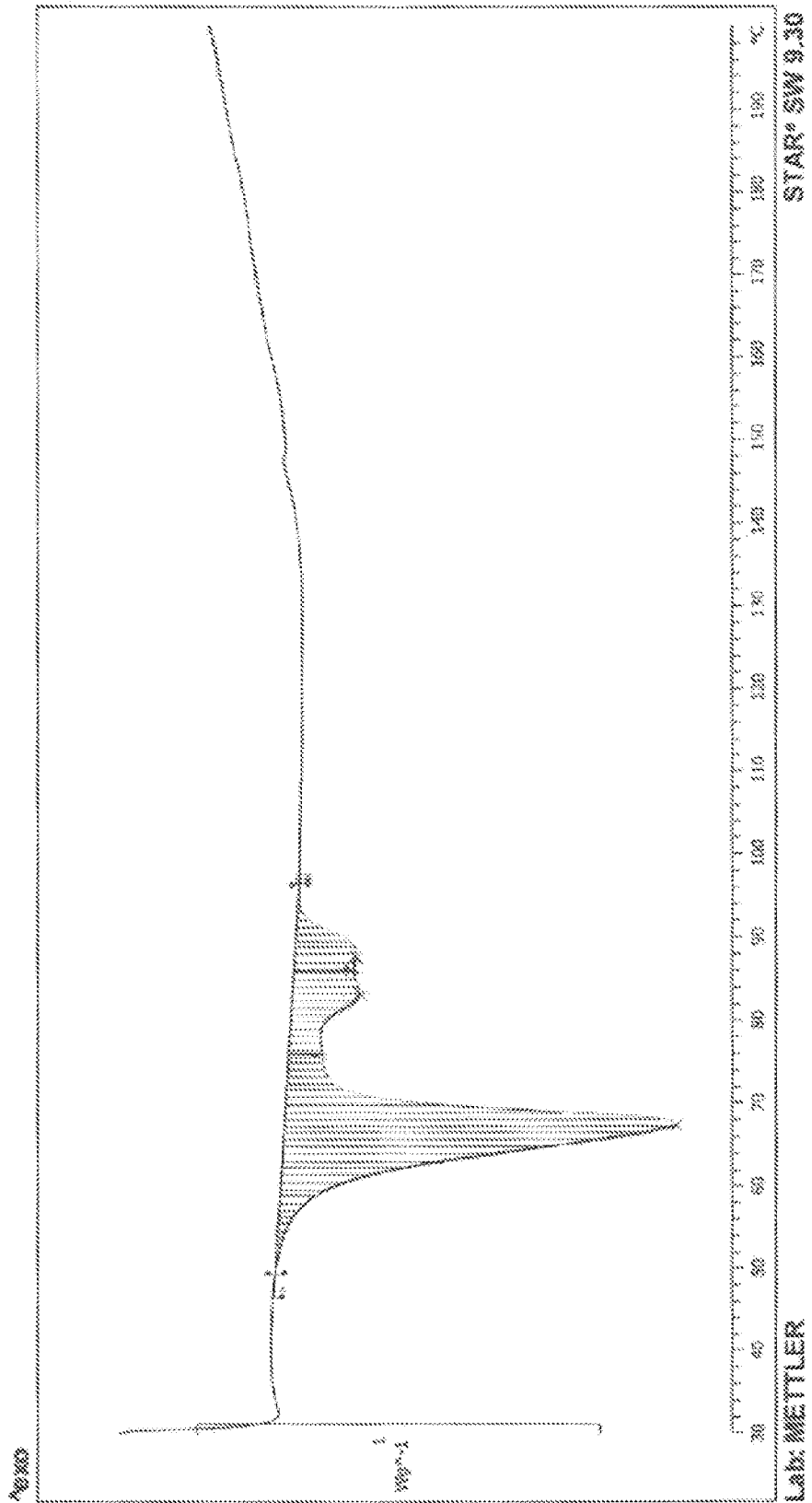


Figura 4

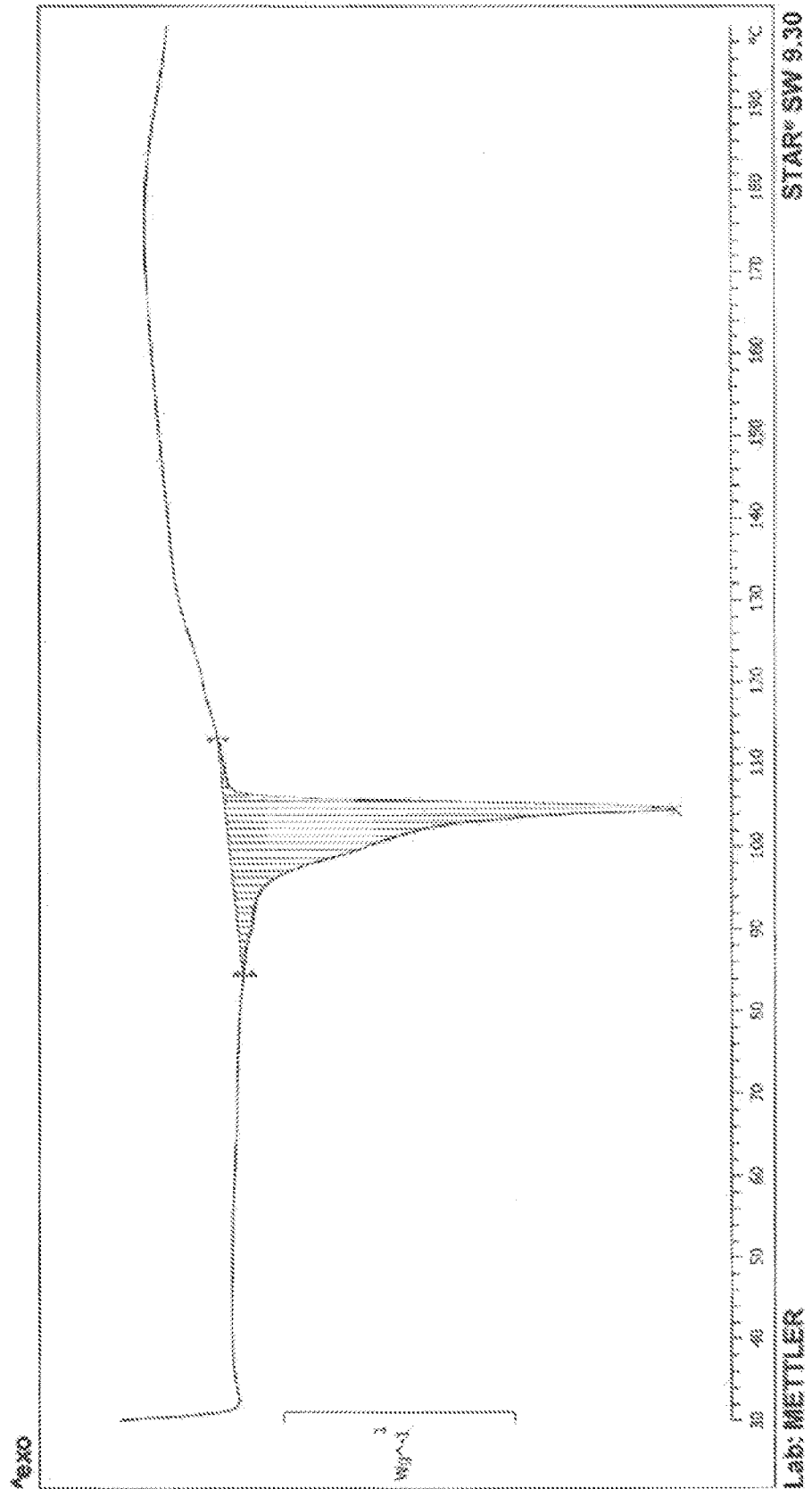
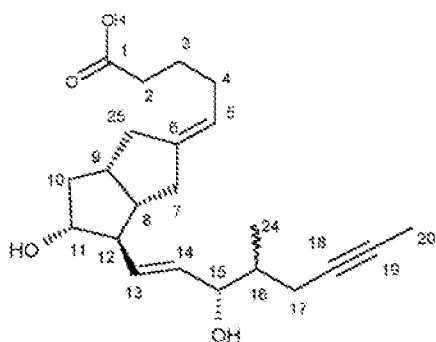
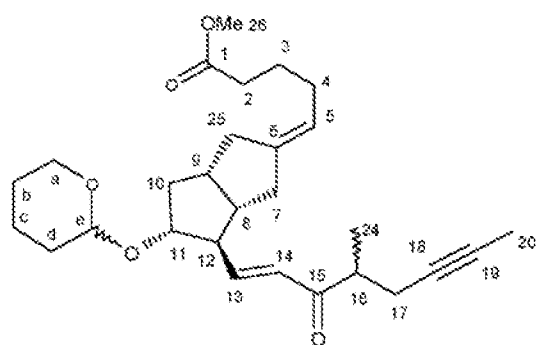


Figura 5



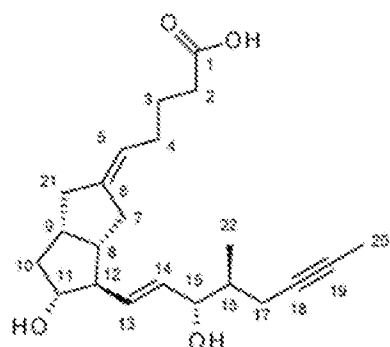
Numeración	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)	Número de ¹ H	Multiplicidad	Constante de Acoplamiento (Hz)
1	175,4	-			
2	34,1	2,23	2	t	J _{2,3} =7,4
3	25,8	1,57	2	m	
4	29,3	2,00	2	m	
5	121,4	5,24	1	t	J _{4,5} =7,1
6	143,48; 143,46	-			
7	38,84; 38,82	2,37; 1,98	2	m	
8	45,5	2,05	1	m	
9	36,0	2,37	1	m	
10	43,06; 43,04	2,16; 1,09	2	m	
11; OH	77,3	3,59; 4,60	t; 1	m	
12	56,82; 56,80	1,75	1	m	
13	133,3; 133,8	5,53; 5,50	1	dd	J _{12,13} =6,4
14	133,1; 133,0	5,39; 5,37	1	dd	J _{13,14} =15,4
15; OH	75,1; 74,4	3,90; 3,77; 4,66; 4,62	t; 1	t	J _{14,15} =6,0
16	39,8; 39,6	1,60; 1,58	1	m	
17	22,8; 22,5	2,26; 2,00; 2,24; 1,91	2	m	
18	77,2; 77,1	-			
19	79,5; 79,3	-			
20	4,1	1,77	3	s	
24	16,4; 15,6	0,92; 0,89	3	d	J _{18,24} =6,8
25	36,5	2,31; 2,03	2	m	

Figura 6



Numeración	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)	Número de ¹ H
1	174,2	-	
2	33,6	2,34	2
3	25,64; 25,62	1,82	2
4	29,1	2,01	2
5	121,79; 121,76	5,27	1
6	142,96; 142,93	-	
7	36,72; 36,65	2,37; 2,00	2
8	45,1	2,23; 2,25	1
9	38,5; 38,4	2,48; 2,33	1
10	41,3; 39,1	2,39; 2,32; 1,27; 1,11	2
11	83,0; 80,1	3,95; 3,90	1
12	55,79; 55,78; 54,98; 54,96	2,16; 2,11	1
13	149,88; 149,78; 149,76; 149,68	6,88; 6,85	1
14	129,53; 129,49; 129,45; 129,13	6,28; 6,25	1
15	202,10; 202,08; 202,04; 202,03	-	
16	43,42; 43,38; 43,23; 43,18	3,00; 2,98	1
17	27,59; 27,56	2,38; 2,24	2
18	78,12; 78,10; 78,07; 78,05	-	
19	77,76; 77,75; 77,74; 77,70	-	
20	4,0	1,74	3
24	17,15; 17,13	1,10; 1,08	3
25	36,1; 36,0	2,32; 2,07	2
26	52,1	3,62	3
e	99,30; 98,8	4,64; 4,56	1
d	31,3; 31,2	1,60; 1,58; 1,44; 1,40	2
c	20,2; 19,8	1,71; 1,58; 1,45; 1,44	2
b	26,0; 25,9	1,62; 1,50; 1,47; 1,42	2
a	62,5; 61,9	3,77; 3,58; 3,42; 3,39	2

Figura 9



Numeración	¹³ C (ppm)	¹ H (ppm)	Número de ¹ H	Multiplicidad	Constante de acoplamiento (Hz) (+/- 0,2 Hz)
1	174,44	-	-	-	
COOH-1		11,995	1	br	
2	33,15	2,15*	2	m (t)	$J_{2,3}=7,3$
3	24,90	1,535**	2	m (quint)	$J_{3,4}=7,3$
4	28,33	1,965***	2	m	
5	120,45	5,205	1	t	$J_{5,6}=6,3$
6	142,53	-	-	-	
7	37,87	β : 2,305* α : 1,965***	1 1	m m	
8	44,58	2,02***	1	m	
9	37,97	2,34*	1	m	
10	42,08	β : 2,14* α : 1,055	1 1	m m (dd)	$J_{10,9a}=12,3$; $J_{9,10b}=7,5$ $J_{9,10c}=7,9$
11	76,37	3,555*	1	td	$J_{10b,11}=9,2$; $J_{10c,11}=7,2$
OH-11		4,54**	1	br	
12	55,86	1,715***	1	m (td)	$J_{12,13}=9,2$
13	132,85	5,47*	1	dd	$J_{12,13}=7,5$; $J_{13,14}=15,4$
14	131,38	5,33**	1	dd	$J_{14,15}=6,9$
15	74,18	3,735	1	t (dd)	$J_{15,16}=5,9$
OH-15		4,60**	1	br	
16	38,68	1,545**	1	m	
17	21,58	a: 2,215* b: 1,955***	1 1	m m	
18	78,34	-	-	-	
19	78,20*	-	-	-	
20	3,18	1,735***	3	m (t)	$J_{17,20}=2,4$
21	55,58	β : 2,285* α : 1,95***	1 1	m m	
22	15,44	0,85***	3	m (df)	$J_{18,22}=6,7$

*: Parcialmente superpuestas con las señales de NMR ¹³C del isómero 16-R-H.O-12. **: **, ***, ***, ***) Señales de NMR ¹H parcialmente superpuestas.

*, **, ***, ***, ***) Parcialmente superpuestas con las señales de NMR ¹H del isómero 16-R-H.O-12. **) Parcialmente superpuesta con la señal de NMR ¹H del agua.