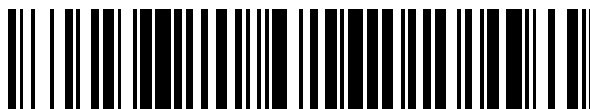


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 892 149**

51 Int. Cl.:

C07F 9/40

(2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.09.2017** **PCT/JP2017/032829**

87 Fecha y número de publicación internacional: **22.03.2018** **WO18051972**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.09.2017** **E 17850874 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **11.08.2021** **EP 3514160**

54 Título: **Método de resolución óptica Nahlsngen**

30 Prioridad:

14.09.2016 JP 2016179297

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

02.02.2022

73 Titular/es:

**KYOTO UNIVERSITY (50.0%)
36-1, Yoshida-honmachi Sakyo-ku
Kyoto-shi, Kyoto 606-8501, JP y
NAHLS CORPORATION CO., LTD. (50.0%)**

72 Inventor/es:

**WATANABE, BUNTA;
YOSHIOKA, RYUZO y
ISHIDA, HIDEAKI**

74 Agente/Representante:

MILTENYI, Peter

Observaciones:

**Véase nota informativa (Remarks, Remarques o
Bemerkungen) en el folleto original publicado por
la Oficina Europea de Patentes**

ES 2 892 149 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

Método de resolución óptica Nahlsgen

Campo técnico

La presente invención se refiere a un método para resolver ópticamente Nahlsgen; y a compuestos ópticamente activos que se aíslan por el método de resolución óptica. Esta solicitud reivindica prioridad respecto a la Solicitud de Patente Japonesa N.º 2016-179297, presentada en Japón el 14 de septiembre de 2016, cuyos contenidos completos se incorporan en el presente documento por referencia.

Técnica anterior

Nahlsgen (marca comercial registrada) o GGsTop (nombre genérico: ácido DL-2-amino-4-[(RSp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico) se conoce como un excelente inhibidor de GGT (por ejemplo, Bibliografía de Patente (PTL) 1).

Nahlsgen es una mezcla de cuatro isómeros ópticos. Sin embargo, aún no se conoce un método para separar completamente los cuatro isómeros ópticos de la mezcla. Además, Nahlsgen no cristaliza a temperatura ambiente, sino que está en un estado oleoso; y un sólido pulverulento amorfo, que se obtiene finalmente por liofilización, es delicuescente y es susceptible de descomponerse a temperatura ambiente. Por lo tanto, el sólido pulverulento debe almacenarse en cámaras frigoríficas o congeladas y es muy difícil de manipular.

El documento US 2009/0163725 se refiere a un derivado de éster del ácido fosfónico que se utiliza como inhibidor de GGT y un método de producción del mismo.

Lista de citas

Bibliografía de patentes

PTL 1: Publicación de Solicitud de Patente No Examinada Japonesa (JP-A) N.º 2010-270115

Sumario de la invención**Problema técnico**

Por consiguiente, la presente invención tiene como objeto proporcionar un método para separar aproximadamente de forma completa los cuatro isómeros ópticos que constituyen Nahlsgen.

La presente invención tiene también como objeto proporcionar un método para producir eficientemente cada uno de los cuatro isómeros ópticos que constituyen Nahlsgen, individualmente.

La presente invención tiene además como otro objeto proporcionar individualmente los cuatro isómeros ópticos que constituyen Nahlsgen, e intermedios sintéticos para los cuatro isómeros ópticos.

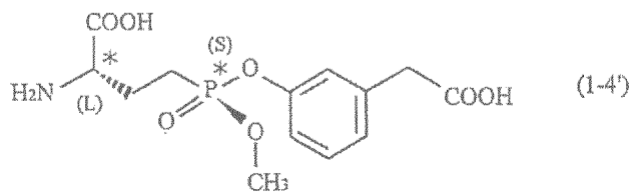
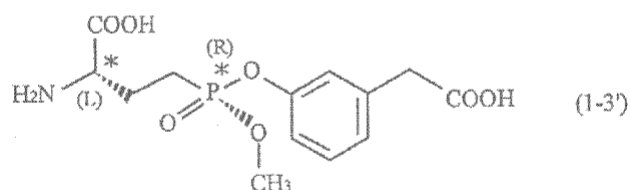
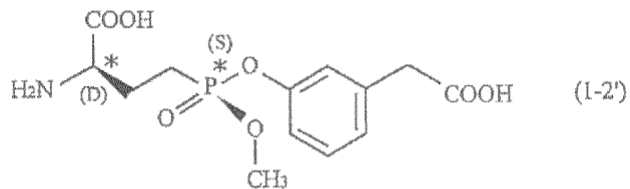
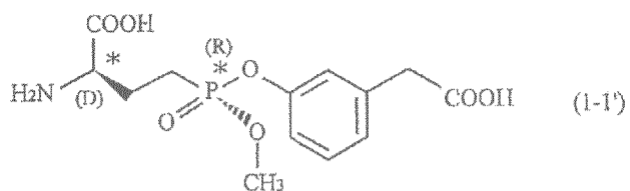
Un compuesto novedoso que se deriva de Nahlsgen, ofrece una excelente actividad inhibidora de GGT, y tiene una excelente estabilidad durante el almacenamiento a temperatura ambiente.

Solución al problema

Tras exhaustivas investigaciones para lograr los objetos, los inventores de la presente invención encontraron que dos de los cuatro isómeros ópticos de Nahlsgen cristalizan como hidratos. El hallazgo de los cristales de hidrato condujo a una exitosa cristalización individual de los mismos, y condujo a la identificación de las configuraciones absolutas de los cuatro isómeros ópticos de Nahlsgen por cristalografía de rayos-X. La presente invención se ha creado sobre la base de estos resultados.

Específicamente, la presente invención proporciona un método para producir una mezcla de un hidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un hidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico. El método incluye someter una mezcla de cuatro isómeros ópticos representados por las Fórmulas (1-1') a (1-4') a cristalización fraccionada en agua o en una mezcla de disolventes de agua y un disolvente orgánico soluble en agua, para dar una mezcla de un hidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-1'-1) y un hidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-4'-1), donde las Fórmulas (1-1'), (1-2'), (1-3'), (1-4') y las Fórmulas (1-1'-1) y (1-4'-1) se expresan como sigue:

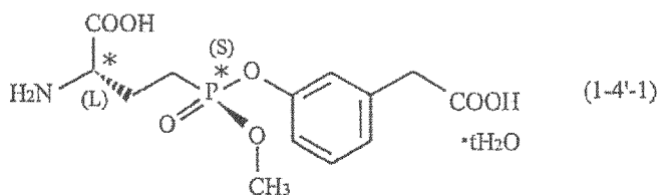
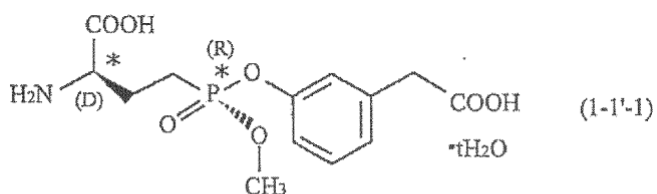
[Fórmula Química 1]



donde los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos,

5

[Fórmula Química 2]

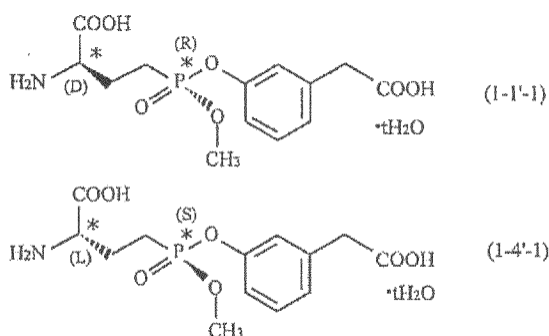


10 donde t representa un número mayor que 0; y * es como se ha definido anteriormente.

La presente invención proporciona también una mezcla de un hidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-1'-1) y un hidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-4'-1), donde las Fórmulas (1-1'-1) y (1-4'-1) se expresan como sigue:

15

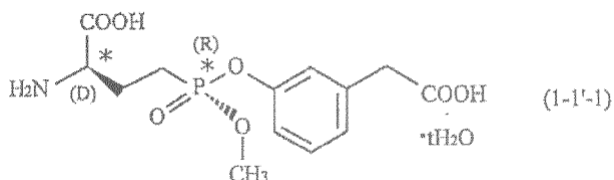
[Fórmula Química 3]



donde los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos; y t representa un número mayor que 0.

- 5 La presente invención proporciona también un hidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-1'-1):

[Fórmula Química 4]

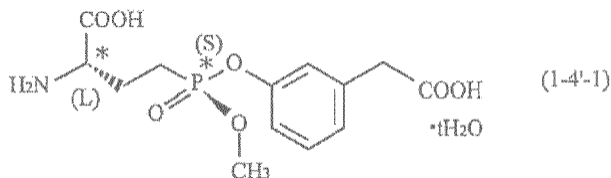


10

donde los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos; y t representa un número mayor que 0.

- 15 La presente invención proporciona también un hidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-4'-1):

[Fórmula Química 5]



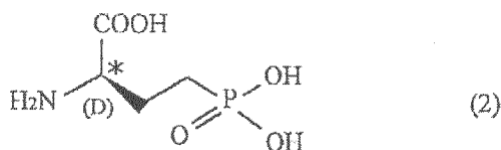
20

donde los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos; y t representa un número mayor que 0.

- 25 La presente invención proporciona también un método para producir una mezcla diastereomérica de un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico. El método incluye esterificar el resto ácido fosfónico del ácido D-2-amino-4-fosfonobutanoico representado por la Fórmula (2), para dar una mezcla diastereomérica, representada por la Fórmula (2-1), de un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico, donde las Fórmulas (2) y (2-1) se expresan como sigue:

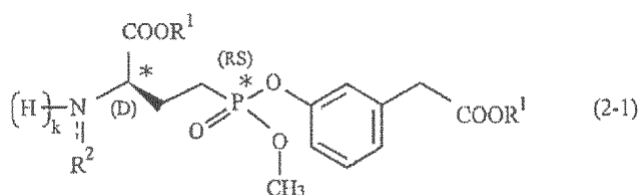
30

[Fórmula Química 6]



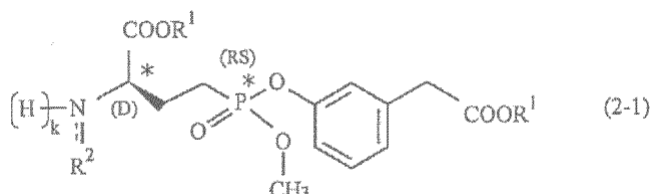
- 35 donde los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos,

[Fórmula Química 7]



donde R^1 , de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi; R^2 se selecciona de benciloxycarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido; k representa 0 o 1, donde cuando R^2 es benciloxycarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R^2 es un enlace sencillo, y cuando R^2 es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R^2 es un doble enlace; y * es como se ha definido anteriormente.

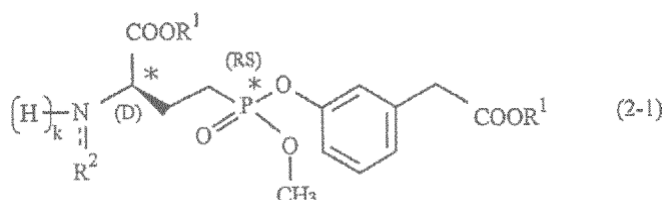
La presente invención proporciona también una mezcla diastereomérica de un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico, donde la mezcla diastereomérica está representada por la Fórmula (2-1):



donde R^1 , de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi; R^2 se selecciona de benciloxycarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido; k representa 0 o 1, donde cuando R^2 es benciloxycarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R^2 es un enlace sencillo, y cuando R^2 es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R^2 es un doble enlace; y los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos.

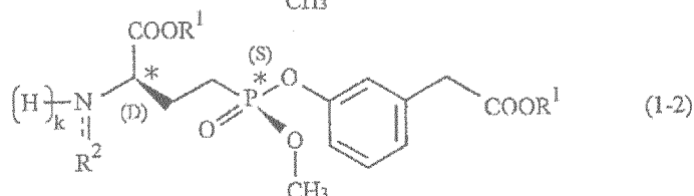
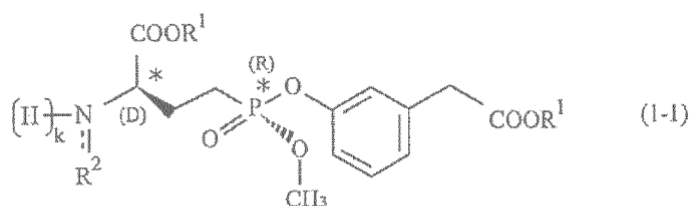
La presente invención proporciona también un método para resolver ópticamente una mezcla diastereomérica de un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico. El método incluye someter una mezcla diastereomérica, representada por la Fórmula (2-1), de un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico a cristalización fraccionada para dar uno de los isómeros ópticos representada por la Fórmula (1-1) y (1-2), donde las Fórmulas (2-1), (1-1), y (1-2) se expresan como sigue:

[Fórmula Química 9]



donde R^1 , de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi; R^2 se selecciona de, benciloxycarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido; k representa 0 o 1, donde cuando R^2 es benciloxycarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R^2 es un enlace sencillo, y cuando R^2 es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R^2 es un doble enlace; y los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos,

[Fórmula Química 10]

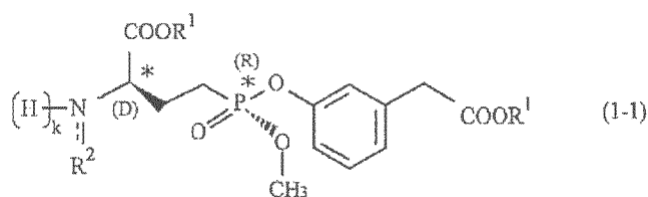


donde R^1 , R^2 , k , y $*$ son como se han definido anteriormente.

- 5 La presente invención proporciona también un método para producir un hidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico. El método incluye someter un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por las Fórmulas (1-1) a un tratamiento de desprotección para dar ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-1'), y someter el ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico resultante a cristalización en
 10 agua o en una mezcla de disolventes de agua y un disolvente orgánico soluble en agua, para dar un hidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-1'-1), donde las Fórmulas (1-1), (1-1'), y (1-1'-1) se expresan como sigue:

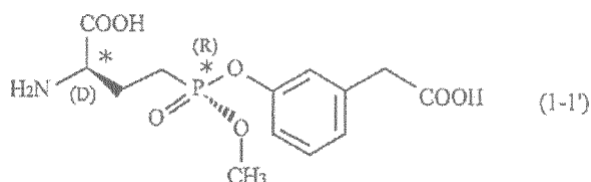
[Fórmula Química 11]

15



- donde R^1 , de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi;
 R^2 se selecciona de benciloxicarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido;
 20 k representa 0 o 1, donde cuando R^2 es benciloxicarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R^2 es un enlace sencillo, y cuando R^2 es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R^2 es un doble enlace; y los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos,

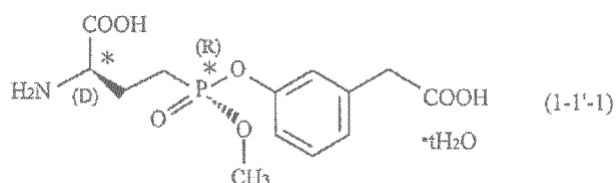
25 [Fórmula Química 12]



donde $*$ es como se ha definido anteriormente,

30

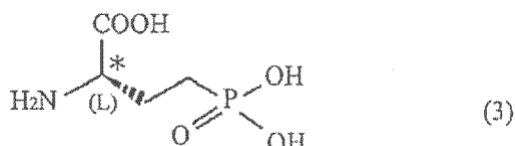
[Fórmula Química 13]



- 35 donde los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos; y t representa un número mayor que 0.

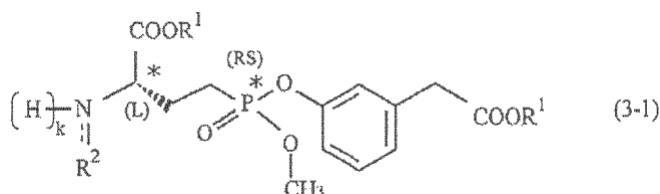
La presente invención proporciona también un método para producir una mezcla diastereomérica de un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico. El método incluye esterificar el resto ácido fosfónico del ácido L-2-amino-4-fosfonobutanoico representado por la Fórmula (3), para dar una mezcla diastereomérica, representada por la Fórmula (3-1), de un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico, donde las Fórmulas (3) y (3-1) se expresan como sigue:

[Fórmula Química 14]



donde el átomo marcado con un asterisco (*) indica un átomo asimétrico,

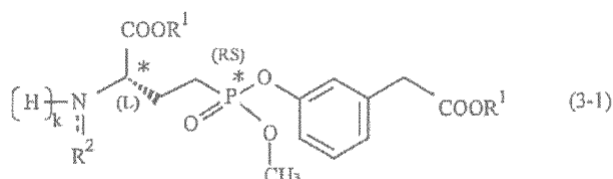
[Fórmula Química 15]



donde R¹, de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi; R² se selecciona de benciloxicarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido; k representa 0 o 1, donde cuando R² es benciloxicarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un enlace sencillo, y cuando R² es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un doble enlace; y * es como se ha definido anteriormente.

La presente invención proporciona también una mezcla diastereomérica de un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico, donde la mezcla diastereomérica está representada por la Fórmula (3-1):

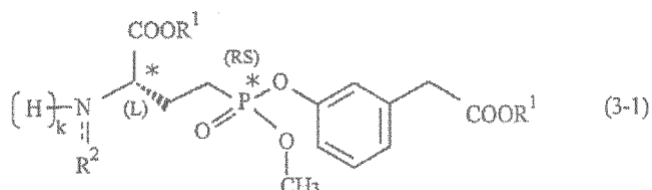
[Fórmula Química 16]



donde R¹, de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi; R² se selecciona de benciloxicarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido; k representa 0 o 1, donde cuando R² es benciloxicarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un enlace sencillo, y cuando R² es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un doble enlace; y los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos.

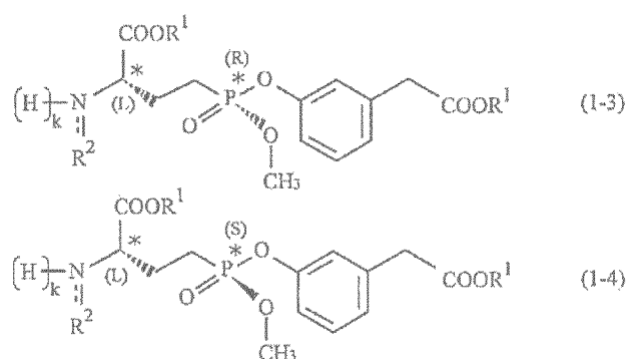
La presente invención proporciona también un método para resolver ópticamente una mezcla diastereomérica de un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico. El método incluye someter una mezcla diastereomérica, representada por la Fórmula (3-1), de un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico a cristalización fraccionada, para dar uno de los isómeros ópticos representados por la Fórmula (1-3) y (1-4), donde las Fórmulas (3-1), (1-3), y (1-4) se expresan como sigue:

[Fórmula Química 17]



donde R¹, de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi; R² se selecciona de benciloxycarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido; k representa 0 o 1, donde cuando R² es benciloxycarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un enlace sencillo, y cuando R² es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un doble enlace; y los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos,

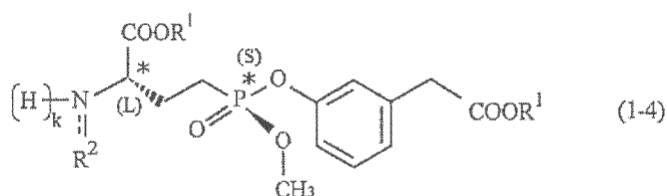
[Fórmula Química 18]



donde R¹, R², k, y * son como se han definido anteriormente.

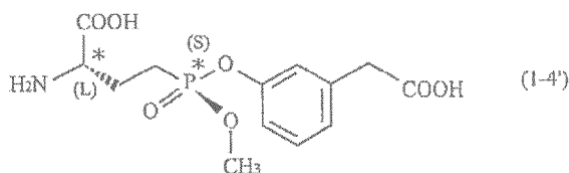
La presente invención proporciona también un método para producir un hidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico. El método incluye someter un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representada por la Fórmula (1-4) a un tratamiento de desprotección para dar ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-4'), y someter el ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico a cristalización en agua o en una mezcla de disolventes de agua y un disolvente orgánico soluble en agua, para dar un hidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-4'-1), donde las Fórmulas (1-4), (1-4'), y (1-4'-1) se expresan como sigue:

[Fórmula Química 19]



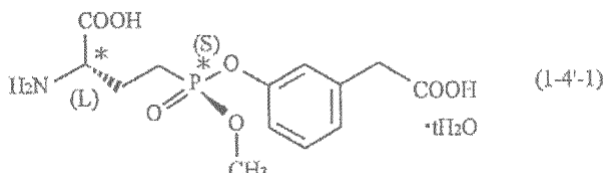
donde R¹, de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi; R² se selecciona de benciloxycarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido; k representa 0 o 1, donde cuando R² es benciloxycarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un enlace sencillo, y cuando R² es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un doble enlace; y los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos,

[Fórmula Química 20]



donde * es como se ha definido anteriormente,

5 [Fórmula Química 21]



donde los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos; y t representa un número mayor que 0.

En esta descripción, (D) y (L) son las configuraciones de los ligandos unidos al átomo de carbono central asimétrico, donde las configuraciones se indican mediante la notación D/L. (D) indica que el grupo amino aparece a la derecha, y (L) indica que el grupo amino aparece a la izquierda, en una proyección de Fischer en la que el carboxi está colocado hacia arriba. (R) y (S) son las configuraciones de los ligandos unidos al átomo de fósforo central asimétrico, donde las configuraciones se indican mediante la notación R/S.

Efectos ventajosos de la invención

Con el método de producción de acuerdo con la presente invención, una mezcla de un hidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un hidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico, que tiene una actividad farmacológica equivalente a la de Nahlsagen, puede obtenerse fácilmente como cristales a partir de Nahlsagen sin utilizar una columna quiral, donde Nahlsagen es una mezcla de cuatro isómeros ópticos.

El método de producción de la mezcla diastereomérica de acuerdo con la presente invención que utiliza un método de agrupación quiral da una mezcla diastereomérica, a partir de la cual los isómeros ópticos se pueden aislar fácilmente por cristalización fraccionada. Los isómeros ópticos aislados, cuando se someten adicionalmente a un tratamiento de desprotección y cristalización fraccionada en agua o en una mezcla de disolventes de agua y un disolvente orgánico soluble en agua, pueden dar, individualmente un hidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un hidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico, cada uno con alta pureza.

El hidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico o hidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico resultante, o la mezcla de ambos, no absorbe aproximadamente nada de humedad a temperatura ambiente, tiene una excelente estabilidad durante el almacenamiento y, por lo tanto, es fácil de manipular. Estas sustancias no tienen citotoxicidad y son altamente seguras. Además, estas sustancias tienen excelentes actividades inhibitorias de GGT y, por lo tanto, son ventajosamente aplicables a diversas enfermedades relacionadas con GGT para fines terapéuticos y/o profilácticos.

Breve descripción de los dibujos

La Figura 1 es una vista esquemática de una estructura de relleno de monohidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico;

La Figura 2 muestra los datos cristalográficos de rayos-X para monohidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico;

La Figura 3 muestra los resultados del análisis térmico para Nahlsagen;

La Figura 4 muestra los resultados del análisis térmico para una mezcla de monohidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y monohidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico;

La Figura 5 muestra los resultados del análisis térmico para monohidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico; y

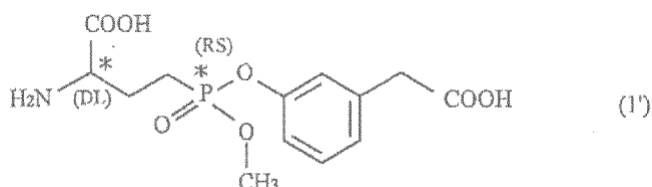
La Figura 6 muestra los resultados del análisis térmico para monohidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico.

5 Descripción de realizaciones

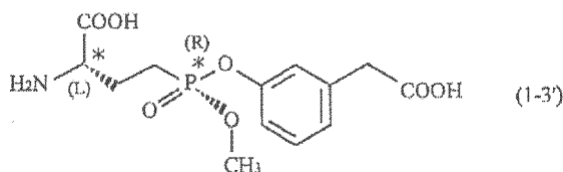
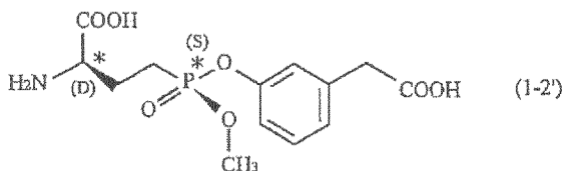
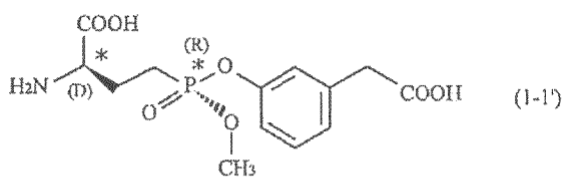
Método de producción de la mezcla diastereomérica

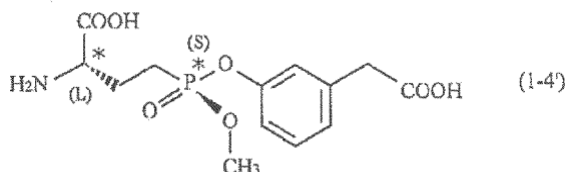
El método de producción de la mezcla diastereomérica de acuerdo con una realización de la presente invención incluye someter el ácido DL-2-amino-4-[(RSp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1') (en lo sucesivo en el presente documento también denominado como "DL-GGStop(RS)") a cristalización fraccionada en agua o en una mezcla de disolventes de agua y un disolvente orgánico soluble en agua, para precipitar o depositar una mezcla (preferentemente, una mezcla de cantidades iguales) de un hidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-1'-1) (en lo sucesivo en el presente documento también denominado como "hidrato de D-GGStop(R)") y un hidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-4'-1) (en lo sucesivo en el presente documento también denominado como "hidrato de L-GGStop(S)"). La Fórmula (1') se expresa como sigue:

[Fórmula Química 22]



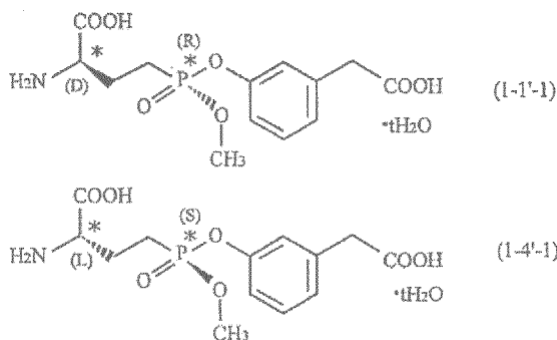
donde los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos. El ácido DL-2-amino-4-[(RSp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1') es una mezcla de cuatro isómeros ópticos, en concreto, ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-1') (en lo sucesivo en el presente documento también denominado como "D-GGStop(R)"), ácido D-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-2') (en lo sucesivo en el presente documento también denominado como "D-GGStop(S)"), ácido L-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-3') (en lo sucesivo en el presente documento también denominado como "L-GGStop(R)"), y ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-4') (en lo sucesivo en el presente documento también denominado como "L-GGStop(S)"). las Fórmulas (1-1'), (1-2'), (1-3'), y (1-4') se expresan como sigue:





donde los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos. Las Fórmulas (1-1'-1) y (1-4'-1) se expresan como sigue:

[Fórmula Química 24]



En las fórmulas, t representa, independientemente en cada aparición, un número mayor que 0 y normalmente es de 0,5 a 5, preferentemente de 0,5 a 3, y particularmente preferentemente 1.

El disolvente orgánico soluble en agua se selecciona preferentemente de disolventes orgánicos que se disuelven en agua en cualquier proporción a temperatura ambiente (25 °C) y se selecciona preferentemente de aquellos que tienen una solubilidad en agua del 50 % o mayor (particularmente preferentemente 80 % o mayor y, lo más preferentemente, del 95 % o mayor).

Algunos ejemplos no limitativos del disolvente orgánico soluble en agua incluyen alcoholes tales como metanol, etanol, propanol, alcohol isopropílico, alcohol t-butilico y etilenglicol; éteres tales como 1,2-dimetoxietano, tetrahydrofurano y 1,4-dioxano; cetonas tales como acetona; y nitrilos tales como acetonitrilo. Cada uno de ellos puede utilizarse en solitario o en combinación.

El disolvente orgánico soluble en agua para su uso en el presente documento se selecciona preferentemente de disolventes que tienen un bajo poder de disolución para el hidrato de D-GGsTop(R) y el hidrato de L-GGsTop(S), en concreto, disolventes pobres para ellos, y particularmente preferentemente se selecciona de alcoholes (y especialmente preferentemente se selecciona de alcoholes monohídricos C₁-C₅).

El agua se utiliza preferentemente en una cantidad de normalmente 1 a 100 partes en peso, más preferentemente de 1 a 30 partes en peso, y particularmente preferentemente de 1 a 10 partes en peso, por 1 parte en peso de DL-GGsTop(RS).

La mezcla de disolventes contiene agua y el disolvente orgánico soluble en agua en proporciones tales que la cantidad del disolvente orgánico soluble en agua normalmente es de 1 a 10 partes en peso, y preferentemente de 1 a 5 partes en peso, por 1 parte en peso de agua. La combinación del disolvente orgánico hidrosoluble en agua en una proporción dentro del intervalo es efectiva para dar una mejor eficiencia de cristalización y se prefiere.

DL-GGsTop(RS), cuando se disuelve en agua o la mezcla de disolventes de agua y un disolvente orgánico soluble en agua, se agita preferentemente a una temperatura apropiada (normalmente de 0 °C a 80 °C, preferentemente de 10 °C a 50 °C, más preferentemente de 15 °C a 40 °C, y particularmente preferentemente de 15 °C a 35 °C).

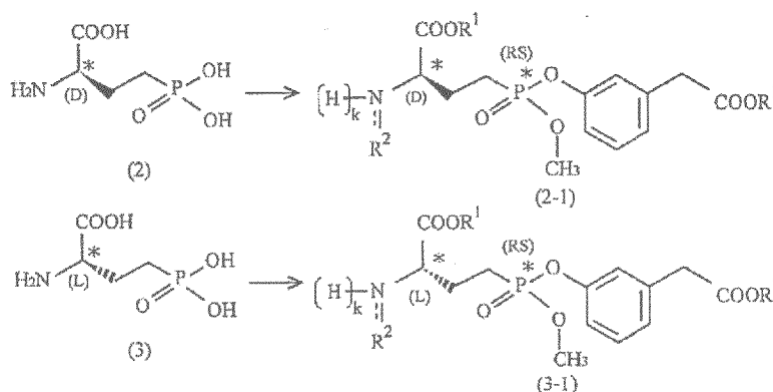
La forma de precipitar o separar la mezcla puede seleccionarse, normalmente de una técnica de reducción de la temperatura, normalmente por enfriamiento, de una solución resultante de la disolución de DL-GGsTop(RS) en agua o la mezcla de disolventes de agua y un disolvente orgánico soluble en agua (reducción de la temperatura normalmente hasta 40 °C o menos (y preferentemente 20 °C o menos)); y una técnica de concentración de la solución (esta técnica puede utilizarse ventajosamente cuando se utiliza un disolvente orgánico soluble en agua que tiene un punto de ebullición más alto, en comparación con el agua). La precipitación de la mezcla se realiza preferentemente con siembra de cristales de uno o ambos del hidrato de D-GGsTop(R) y el hidrato de L-GGsTop(S). Esto es preferible, para una mejor eficiencia de cristalización.

La mezcla precipitada puede recuperarse o recogerse por un medio habitual, bien conocido, tal como separación centrífuga y/o filtración. La mezcla recogida puede someterse a un tratamiento de purificación tal como filtración, concentración, destilación, extracción, cristalización, adsorción o recristalización, o cualquier combinación de las mismas. Además, la mezcla recogida puede someterse a un tratamiento de secado (tal como secado con aire, secado al vacío, o secado con aire caliente).

Método de producción de la mezcla diastereomérica (método de agrupación quiral)

El método de producción de la mezcla diastereomérica de acuerdo con una realización de la presente invención es un método para producir una mezcla diastereomérica (una mezcla de un par de compuestos en una relación diastereomérica entre sí) a través de un método denominado de agrupación quiral, esterificando el resto ácido fosfónico de un compuesto de partida seleccionado del ácido D-2-amino-4-fosfonobutanoico representado por la Fórmula (2) y el ácido L-2-amino-4-fosfonobutanoico representado por la Fórmula (3). El ácido D-2-amino-4-fosfonobutanoico representado por la Fórmula (2), cuando se utiliza como el material de partida, da una mezcla diastereomérica de un derivado de D-GGsTop(R) y un derivado de D-GGsTop(S), representada por la Fórmula (2-1). El ácido L-2-amino-4-fosfonobutanoico representado por la Fórmula (3), cuando se utiliza como el material de partida, da una mezcla diastereomérica de un derivado de L-GGsTop(R) y un derivado de L-GGsTop(S), representada por la Fórmula (3-1):

[Fórmula Química 25]



En las fórmulas, R¹, de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi; R² se selecciona de benciloxycarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido; k representa 0 o 1, donde; cuando R² es benciloxycarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un enlace sencillo, y cuando R² es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un doble enlace; y los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos.

El grupo protector de carboxi tal como R¹ puede seleccionarse de grupos protectores utilizados generalmente en el campo de la síntesis orgánica y, en particular, se selecciona preferentemente de grupos protectores formadores de éster, que son grupos que forman un éster con el carboxi. Algunos ejemplos no limitativos de los grupos protectores incluyen alquilos C₁-C₅ de cadena lineal o ramificada (tales como etilo y t-butilo), alquénilos C₂-C₅ de cadena lineal o ramificada (tales como alilo), arilos C₆-C₁₀ (tales como fenilo), y grupos cada uno de los cuales incluye dos o más de los mismos que están unidos a través de un enlace sencillo o un grupo de engarce (tal como un enlace carbonilo (-CO-) o éter (-O-)), donde cada uno de estos grupos puede estar sustituido.

Algunos ejemplos específicos, aunque no limitativos, del grupo protector de carboxi incluyen bencilo, benciloximetilo, fenacilo, trifenilmetilo y difenilmetilo. Al anillo de benceno que constituye el grupo protector de carboxi, se le pueden unir uno más sustituyentes, donde algunos ejemplos no limitativos de los sustituyentes incluyen halógenos, alcoxis C₁-C₃, y nitro.

Entre ellos, un ejemplo no limitativo preferido del grupo protector de carboxi es bencilo opcionalmente sustituido, porque tal bencilo opcionalmente sustituido puede retirarse eficientemente (desprotegerse) por reducción catalítica de hidrógeno o por reacción de transferencia de hidrógeno (reacción de transferencia híbrida) normalmente utilizando ácido fórmico como una fuente de hidrógeno, donde R¹ puede retirarse junto con (o simultáneamente con) R² en la reducción catalítica de hidrógeno, y puede retirarse en solitario en la reacción de transferencia de hidrógeno.

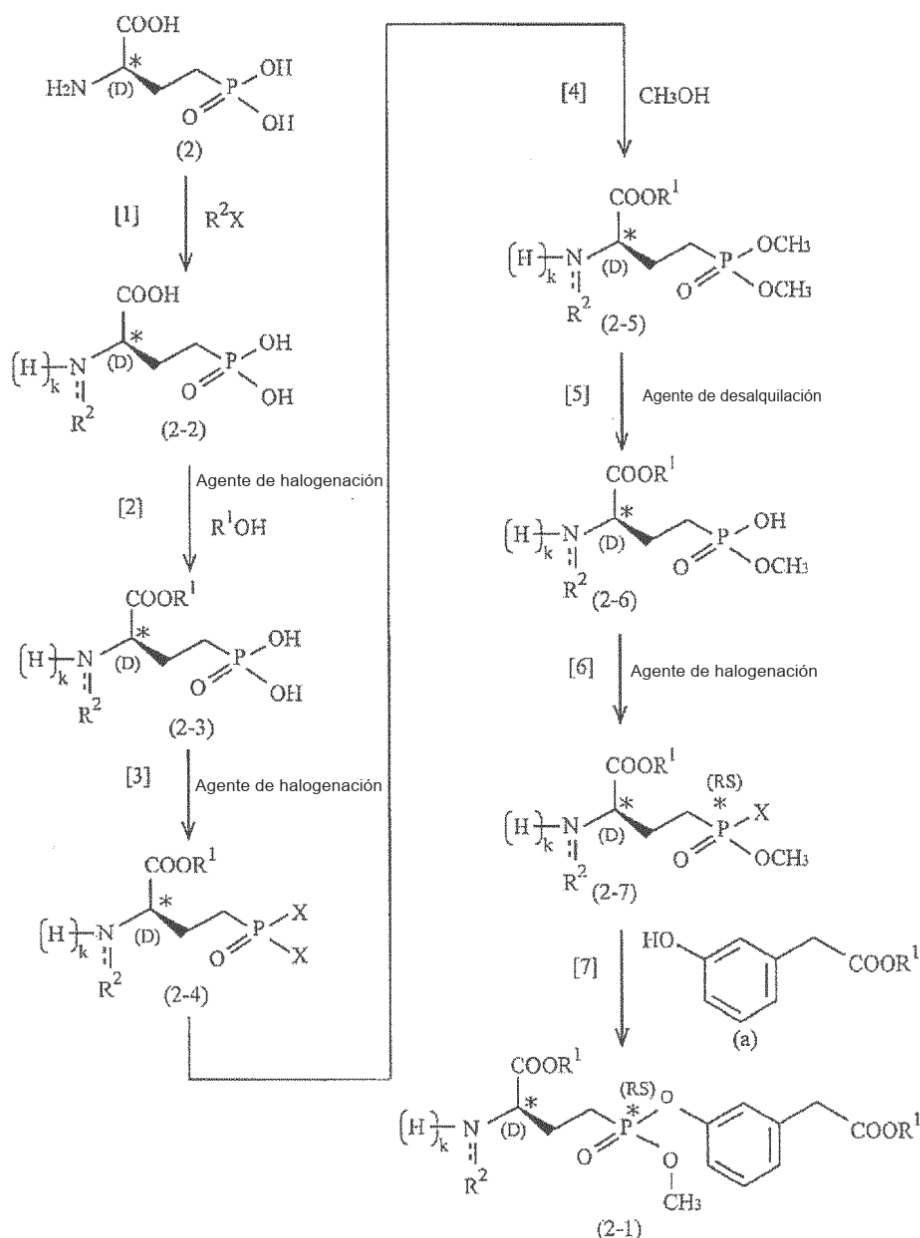
El grupo R² es un grupo protector de amino y se selecciona de benciloxycarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, cada uno de los cuales puede tener uno o más sustituyentes tales como halógenos, alcoxis C₁-C₃, y nitro. Estos grupos

protectores pueden retirarse fácilmente por reducción catalítica con hidrógeno.

Entre ellos, el grupo R^2 es preferentemente benciloxicarbonilo opcionalmente sustituido.

- 5 La reacción que usa el ácido D-2-amino-4-fosfonobutanoico representado por la Fórmula (2) como el material de partida para dar una mezcla diastereomérica de un derivado de D-GGTop(R) y un derivado de D-GGTop(S), representada por la Fórmula (2-1), normalmente se realiza a través de las siguientes etapas. En las fórmulas a continuación, R^1 , R^2 , k, y * son como se han definido anteriormente; y X representa, de forma idéntica o diferente en

10 [Fórmula Química 26]



- 15 El ácido D-2-amino-4-fosfonobutanoico representado por la Fórmula (2) y el ácido L-2-amino-4-fosfonobutanoico representado por la Fórmula (3), cada uno para usarlo como el material de partida, puede producirse normalmente por cualquiera de los métodos descritos en la Bibliografía No de Patente (Kosolapoff G.M. Isomerization of Alkyl Phosphites. VII. Some Derivatives of 2-Bromoethane Phosphonic Acid J. Am. Chem. Soc. 1948, 70, 1971-1972; Chambers, J. R., Isbell, A. F. A new synthesis of amino phosphonic acids. J. Org. Chem. 1964, 29, 832-836.

20 La Etapa [1] es la etapa de introducir un grupo protector en el grupo amino del ácido D-2-amino-4-fosfonobutanoico

representado por la Fórmula (2). Por ejemplo, cuando R^2 es benciloxicarbonilo opcionalmente sustituido, el grupo protector puede introducirse haciendo reaccionar el ácido D-2-amino-4-fosfonobutanoico disuelto en un disolvente con R^2X (tal como cloroformiato de bencilo o bromoformiato de bencilo), cuando se necesaria en presencia de una base (tal como hidróxido de sodio). Cuando R^2 es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o difenilmetilideno opcionalmente sustituido, el grupo protector puede introducirse haciendo reaccionar el ácido D-2-amino-4-fosfonobutanoico con benzaldehído opcionalmente sustituido o benzofenona opcionalmente sustituida, cuando sea necesario en presencia de un catalizador ácido.

Los ejemplos no limitativos del disolvente para su uso en el presente documento incluyen agua; disolventes de hidrocarburos halogenados; disolventes de hidrocarburos saturados o insaturados; disolventes de hidrocarburos aromáticos; y disolventes de éter, cada uno de los cuales puede usarse en solitario o en combinación.

La reacción en la Etapa [1] puede realizarse a una temperatura de preferentemente aproximadamente la temperatura ambiente (de 15 °C a 25 °C), durante un tiempo normalmente de aproximadamente 10 a aproximadamente 40 horas.

La Etapa [2] es la etapa de introducir un grupo protector en el grupo carboxi del ácido D-2-amino-4-fosfonobutanoico representado por la Fórmula (2). Esta etapa puede realizarse haciendo reaccionar un compuesto representado por la Fórmula (2-2), resultante de la Etapa [1], con un agente de halogenación tal como cloruro de tionilo para dar un haluro carboxílico correspondiente, y hacer reaccionar el haluro carboxílico con R^1OH .

La reacción en la Etapa [2] puede realizarse a una temperatura de preferentemente 5 °C a 30 °C, durante un tiempo normalmente de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 horas.

La Etapa [1] y la Etapa [2] pueden realizarse en la secuencia inversa. En concreto, la Etapa [2] y la Etapa [1] pueden realizarse en esta secuencia.

La Etapa [3] es la etapa de hacer reaccionar un compuesto representado por la Fórmula (2-3), resultante a partir de las Etapas [1] y [2], con un agente de halogenación para sustituir los hidroxis del resto ácido fosfónico con halógenos para dar así un compuesto representado por la Fórmula (2-4). Un ejemplo no limitativo del agente de halogenación es dicloruro de oxalilo. Cada uno de los diferentes agentes de halogenación puede utilizarse en solitario o en combinación. La reacción realizada en presencia de un catalizador (tal como N,N-dimetilformamida), y un disolvente (tal como disolventes de hidrocarburos halogenados y disolventes de éter).

La reacción en la Etapa [3] puede realizarse a una temperatura de preferentemente 5 °C a 30 °C, durante un tiempo normalmente de aproximadamente 1 a aproximadamente 10 horas.

La Etapa [4] es la etapa de hacer reaccionar un compuesto representado por la Fórmula (2-4), resultante a través de la Etapa [3], con metanol para sustituir los halógenos en el resto ácido fosfónico con metoxis para dar así un compuesto representado por la Fórmula (2-5). Esta reacción se realiza preferentemente en presencia de una base. Algunos ejemplos no limitativos de la base incluyen trietilamina, tributilamina, diisopropilamina, N-metilpiperidina, N-metilmorfolina, dietilisopropilamina, N-metilimidazol y piridina. La reacción se realiza preferentemente en presencia de un disolvente. El disolvente para su uso en el presente documento es preferentemente diclorometano.

La reacción en la Etapa [4] se realiza a una temperatura de preferentemente 5 °C a 30 °C, durante un tiempo normalmente de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 horas.

La Etapa [5] es la etapa de hacer reaccionar un compuesto representado por la Fórmula (2-5), resultante a través de la Etapa [4], con un agente de desalquilación para retirar uno de los dos metoxis en el resto ácido fosfónico para dar así un compuesto representado por la Fórmula (2-6). Algunos ejemplos no limitativos del agente de desalquilación incluyen yoduros de metales alcalinos o de metales alcalinotérreos, tales como yoduro de sodio, yoduro de potasio y yoduro de calcio. Cada uno de ellos puede usarse en solitario o en combinación.

La reacción en la Etapa [5] se realiza preferentemente en presencia de un disolvente (tal como cetonas ejemplificadas por acetona y metil etil cetona).

La reacción en la Etapa [5] puede realizarse a una temperatura de preferentemente 50 °C a 80 °C, durante un tiempo normalmente de aproximadamente 5 a aproximadamente 10 horas.

La Etapa [6] es la etapa de hacer reaccionar un compuesto representado por la Fórmula (2-6), resultante a través de la Etapa [5], con un agente de halogenación para sustituir el hidroxil del resto ácido fosfónico con halógeno para dar así un compuesto representada por la Fórmula (2-7). Esta etapa se realiza mediante un procedimiento similar al de la Etapa [3].

La Etapa [7] es la etapa de hacer reaccionar un compuesto representado por la Fórmula (2-7), resultante a través de la Etapa [6], con ácido 2-(3-hidroxifenil)acético o un derivado del mismo (es decir, el compuesto representado por la Fórmula (a)) para esterificar el resto ácido fosfónico para dar así una mezcla diastereomérica de un derivado de D-

GGsTop(R) y un derivado de D-GGsTop(S), donde la mezcla diastereomérica está representada por la Fórmula (2-1).

Esta reacción se realiza preferentemente en presencia de una base. Algunos ejemplos no limitativos de la base incluyen trietilamina, tributilamina, diisopropiletilamina, N-metilpiperidina, N-metilmorfolina, dietilisopropilamina, N-metilimidazol y piridina. Cada una de ellas puede usarse en solitario o en combinación. La reacción se realiza preferentemente en presencia de un disolvente. El disolvente para su uso en el presente documento es preferentemente diclorometano.

La reacción en la Etapa [7] puede realizarse a una temperatura de preferentemente 5 °C a 30 °C, durante un tiempo normalmente de aproximadamente 1 a aproximadamente 20 horas.

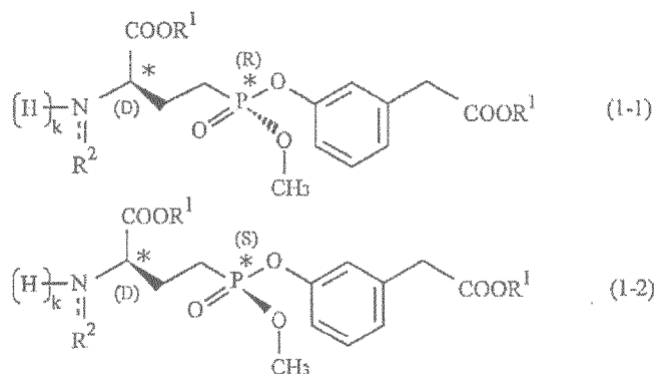
Una vez completadas cada una de las Etapas [1] a [7], el producto de reacción resultante puede purificarse, antes de una etapa posterior, por un medio de separación tal como filtración, concentración, destilación, extracción, cristalización, adsorción, recristalización o cromatografía en columna, o un medio de separación tal como cualquier combinación de ellos.

La mezcla diastereomérica de un derivado de L-GGsTop(R) y un derivado de L-GGsTop(S), representada por la Fórmula (3-1), puede producirse por un procedimiento similar al de aquel para la mezcla diastereomérica de un derivado de D-GGsTop(R) y un derivado de D-GGsTop(S), representada por la Fórmula (2-1), excepto porque se usa el ácido L-2-amino-4-fosfonobutanoico representado por la Fórmula (3) como el material de partida en lugar del ácido D-2-amino-4-fosfonobutanoico representado por la Fórmula (2).

Método de resolución óptica de una mezcla diastereomérica

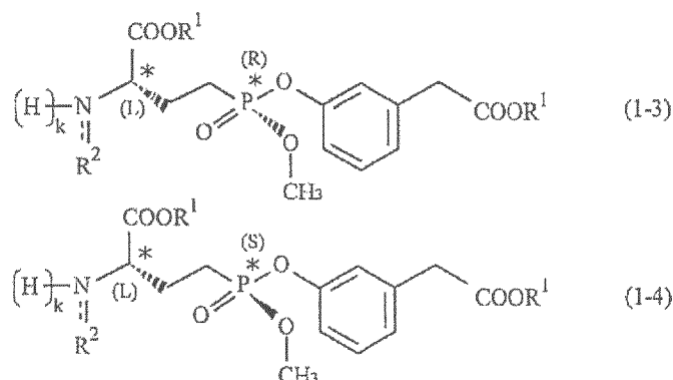
El método para resolver ópticamente una mezcla diastereomérica de acuerdo con una realización de la presente invención incluye someter a cristalización fraccionada la mezcla diastereomérica de un derivado de D-GGsTop(R) y un derivado de D-GGsTop(S), representada por la Fórmula (2-1), o la mezcla diastereomérica de un derivado de L-GGsTop(R) y un derivado de L-GGsTop(S), representada por la Fórmula (3-1). Esto da uno de los isómeros ópticos representados por las Fórmulas (1-1) y (1-2) cuando la mezcla diastereomérica de un derivado de D-GGsTop(R) y un derivado de D-GGsTop(S), representada por la Fórmula (2-1), se usa como el material de partida; y da uno de los isómeros ópticos representados por las Fórmulas (1-3) y (1-4) cuando la mezcla diastereomérica de un derivado de L-GGsTop(R) y un derivado de L-GGsTop(S), representada por la Fórmula (3-1), se usa como el material de partida. Las Fórmulas (1-1), (1-2), (1-3) y (1-4) se expresan como sigue:

[Fórmula Química 27]



donde R¹, R², k, y * son como se han definido anteriormente,

[Fórmula Química 28]



donde R^1 , R^2 , k , y $*$ son como se han definido anteriormente.

- 5 La cristalización fraccionada de la mezcla diastereomérica puede realizarse por una técnica común, bien conocida, no limitada, aunque preferentemente se realiza normalmente por una técnica en la cual la mezcla diastereomérica se disuelve en un buen disolvente (tal como acetato de metilo, acetato de etilo o acetato de butilo), y un mal disolvente (tal como pentano, hexano, heptano u octano) se añade a la solución resultante. Cuando la mezcla diastereomérica de un derivado de D-GGsTop(R) y un derivado de D-GGsTop(S), representada por la Fórmula (2-1), se usa como el material de partida se prefiere, para una mejor eficiencia de cristalización, sembrar uno de los isómeros ópticos representados por las Fórmulas (1-1) y (1-2), que es el que se desea hacer precipitar. Cuando la mezcla diastereomérica de un derivado de L-GGsTop(R) y un derivado de L-GGsTop(S), representada por la Fórmula (3-1), se usa como el material de partida se prefiere, para una mejor eficiencia de cristalización, sembrar uno de los isómeros ópticos representados por las Fórmulas (1-3) y (1-4), que es el que se desea hacer precipitar.

- 15 Los isómeros ópticos representados por las Fórmulas (1-1), (1-2), (1-3) y (1-4), que se obtienen por el método de resolución óptica de la mezcla diastereomérica, prácticamente no absorben humedad a temperatura ambiente, tienen una excelente estabilidad durante el almacenamiento y, por lo tanto, son fáciles de manipular. Los isómeros ópticos, cuando se someten a un tratamiento de desprotección, dan isómeros ópticos representados, respectivamente, por las Fórmulas (1-1'), (1-2'), (1-3') y (1-4'). Todos estos compuestos prácticamente no tienen citotoxicidad, son muy seguros y tienen excelentes actividades inhibitorias de GGT. Estos compuestos se utilizan, por lo tanto, para diversas enfermedades relacionadas con GGT ejemplificadas por enfermedades de la piel tales como enfermedades alérgicas de la piel, ictiosis vulgar y xerosis senil, con fines terapéuticos y/o profilácticos. Por consiguiente, los isómeros ópticos representados por las Fórmulas (1-1), (1-2), (1-3) y (1-4) son útiles como intermedios sintéticos de los isómeros ópticos representado por las Fórmulas (1-1'), (1-2'), (1-3') y (1-4').

Método de producción de hidrato de D-GGsTop(R) e hidrato de L-GGsTop(S)

- 30 El método de acuerdo con una realización de la presente invención para producir un hidrato de D-GGsTop(R) y un hidrato de L-GGsTop(S) incluye someter un derivado de D-GGsTop(R) a un tratamiento de desprotección para dar D-GGsTop(R), y someter el D-GGsTop(R) resultante a cristalización en agua o en una mezcla de disolventes de agua y un disolvente orgánico soluble en agua para dar a hidrato de D-GGsTop(R); o someter un derivado de L-GGsTop(S) a un tratamiento de desprotección para dar L-GGsTop(S), y someter el L-GGsTop(S) resultante a cristalización en agua o en una mezcla de disolventes de agua y un disolvente orgánico soluble en agua, para dar un hidrato de L-GGsTop(S).

- 40 La cristalización de D-GGsTop(R) o L-GGsTop(S) en agua o en una mezcla de disolventes de agua y un disolvente orgánico soluble en agua puede realizarse mediante un procedimiento de conformidad con el procedimiento para la cristalización en agua o en una mezcla de disolventes de agua y un disolvente orgánico soluble en agua en el método de producción de la mezcla diastereomérica.

- 45 El tratamiento de desprotección no está limitado, siempre y cuando sea un tratamiento que pueda retirar el grupo protector de amino. Cuando se protege el grupo carboxi, más específicamente, cuando R^1 en las Fórmulas (1-1) s (1-4) es un grupo protector de carboxi, el tratamiento de desprotección no está limitad, siempre y cuando sea un tratamiento que pueda retirar no solo el grupo protector de amino, sino también el grupo protector de carboxi. Cuando tanto el grupo amino como el grupo carboxi están protegidos con grupos protectores, el grupo protector de amino y el grupo protector de carboxi pueden retirarse juntos (por ejemplo, retirarse en una etapa por el mismo método), o pueden retirarse escalonadamente (por ejemplo, retirarse uno a uno, por dos métodos diferentes).

- 50 En particular en la presente invención, se prefiere que los dos grupos protectores diferentes (en concreto, el grupo protector de amino y el grupo protector de carboxi) se retiren juntos (en una etapa) por el mismo método. Por ejemplo, los dos grupos protectores diferentes se retiran preferentemente juntos mediante un método de reducción (en particular, reducción catalítica con hidrógeno). Esto se prefiere para permitir una desprotección eficiente.

La reducción catalítica con hidrógeno generalmente se realiza por un procedimiento en el que uno de los isómeros ópticos, es decir, el derivado de D-GGsTop(R), derivado de D-GGsTop(S), derivado de L-GGsTop(R) y el derivado de L-GGsTop(S), se pone en contacto con hidrógeno gaseoso en presencia de un catalizador. Algunos ejemplos no limitativos del catalizador incluyen níquel Raney, paladio sobre (Pd-C), PtO₂, y Pd(OH)₂.

El tratamiento de desprotección por reducción catalítica con hidrógeno se realiza preferentemente en presencia de un disolvente. Algunos ejemplos no limitativos del disolvente incluyen alcoholes ejemplificados normalmente por alcoholes alifáticos monohídricos C₁-C₅ tales como metanol, etanol e isopropanol; ácidos grasos ejemplificados normalmente por ácidos grasos inferiores C₁-C₅ tales como ácido fórmico, ácido acético y ácido propiónico; y ésteres de ácido graso ejemplificados normalmente por ésteres entre un ácido grasos inferior C₁-C₅ y un alcohol monohídrico C₁-C₅, tal como acetato de metilo, acetato de etilo y acetato de butilo. Cada uno de ellos puede usarse en solitario o en combinación.

El tratamiento de desprotección por reducción catalítica con hidrógeno método se realiza preferentemente mediante un procedimiento en el que uno de los isómeros ópticos se hace reaccionar con el catalizador en una atmósferas de hidrógeno gaseoso y en presencia del disolvente; o mediante un procedimiento en el que el hidrógeno gaseoso se burbujea dentro de una mezcla (solución) que contiene uno de los isómeros ópticos, el catalizador y el disolvente.

El tratamiento de desprotección por reducción catalítica con hidrógeno se realiza a una temperatura normalmente de aproximadamente 0 °C a aproximadamente 40 °C, durante un tiempo normalmente de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 5 horas. El tratamiento de desprotección puede realizarse en cualquier sistema tal como un sistema discontinuo, un sistema semi-continuo o un sistema continuo.

El hidrato de D-GGsTop(R) y el hidrato de L-GGsTop(S) de acuerdo con las realizaciones de la presente invención tienen estructuras cada una de la cuales incluye "t" moléculas de agua que están unidas y, de esta manera, cristalizan a temperatura ambiente. La estructura de relleno ilustrada en la Figura 1 demuestra que las moléculas de H₂O están implicadas significativamente en la estructura cristalina.

El hidrato de D-GGsTop(R) y el hidrato de L-GGsTop(S) de acuerdo con la presente invención, y una mezcla de ellos (en lo sucesivo en el presente documento también denominada como "los hidratos y la mezcla de hidratos") prácticamente no absorbe humedad a temperatura ambiente (en concreto, prácticamente no tienen aproximadamente deliquesencia), tienen una excelente estabilidad durante el almacenamiento, y son fáciles de manipular. Los hidratos y la mezcla de hidratos prácticamente no tienen citotoxicidad y son muy seguros. Además, los hidratos y la mezcla de hidratos tienen excelentes actividades inhibitorias de GGT. Por ejemplo, las sustancias son capaces de actuar específicamente sobre los fibroblastos de la piel para inhibir GGT, provocar la disminución del glutatión y, por lo tanto, mejorar la producción de colágeno a través de la respuesta al estrés antioxidativo. Las sustancias son por tanto capaces de contribuir a una mejor función de barrera para restringir la entrada de alérgenos y frenar las reacciones alérgicas. Además, las sustancias son capaces de ofrecer eficacias o efectos típicos de la promoción de la producción de elastina, la promoción de la producción de HSP47, la promoción de la producción de glutatión, la promoción de la producción de filagrina, la mejora de la expresión génica de la filagrina y la promoción de la migración-crecimiento de los queratinocitos epidérmicos. Por lo tanto, las sustancias son ventajosamente utilizables normalmente como inhibidores de GGT, promotores de la producción de colágeno, promotores de la producción de elastina, promotores de la producción de HSP47, promotores de la producción de glutatión, promotores de la producción de filagrina, potenciadores de la expresión génica de la filagrina, y promotores de la migración-crecimiento de los queratinocitos epidérmicos.

Los hidratos y la mezcla de hidratos son ventajosamente utilizables para fines de salud y belleza de la piel y el cabello. Además, los hidratos y la mezcla de hidratos son ventajosamente utilizables para diversas enfermedades relacionadas con GGT con fines terapéuticos y/o profilácticos.

Los hidratos y la mezcla de hidratos, cuando se aplican a los tejidos epidérmicos (tales como la piel, el cabello y las uñas), son eficaces para promover o potenciar la producción de colágeno y dar mejores funciones de barrera. Además, los hidratos y la mezcla de hidratos, cuando se aplican a la piel, ofrecen efectos antienviejecimiento y/o efectos de blanqueamiento de la piel al promover la producción de glutatión y/o la producción de filagrina. Los hidratos y la mezcla de hidratos son ventajosamente utilizables normalmente para el tratamiento o la profilaxis de enfermedades de la piel o para el cuidado de la piel. Los ejemplos no limitativos de las enfermedades de la piel incluyen las enfermedades alérgicas de la piel, ictiosis vulgar y xerosis senil.

Los hidratos y la mezcla de hidratos, cuando se aplican a los ojos, son eficaces para la prevención o el control del desarrollo de la catarata, y para el tratamiento o la profilaxis de la úlcera corneal, la abrasión epitelial corneal y la queratitis. Los hidratos y la mezcla de hidratos, cuando se aplican a la nariz (en concreto, normalmente a la cavidad nasal o paranasal), son eficaces normalmente para tratar o prevenir la rinitis alérgica.

Como se ha demostrado en la descripción anterior, los hidratos y la mezcla de hidratos son ventajosamente utilizables; normalmente como agentes dermatológicos, preparaciones oftálmicas (gotas para los ojos), gotas nasales, gotas para los oídos, preparaciones para uso oral, cosméticos para el cuidado de la piel, y aditivos tales como aditivos para el baño.

Los agentes dermatológicos incluyen preparaciones para aplicación externa, tales como cremas, ungüentos, geles, lociones, medicamentos líquidos y tinturas; emplastos o parches cutáneos adhesivos, tales como cataplasmas, emplastos, cintas y parches; y agentes en aerosol (esprays). Los preparados para uso oral incluyen medicamentos para hacer gárgaras y medicamentos en aerosol.

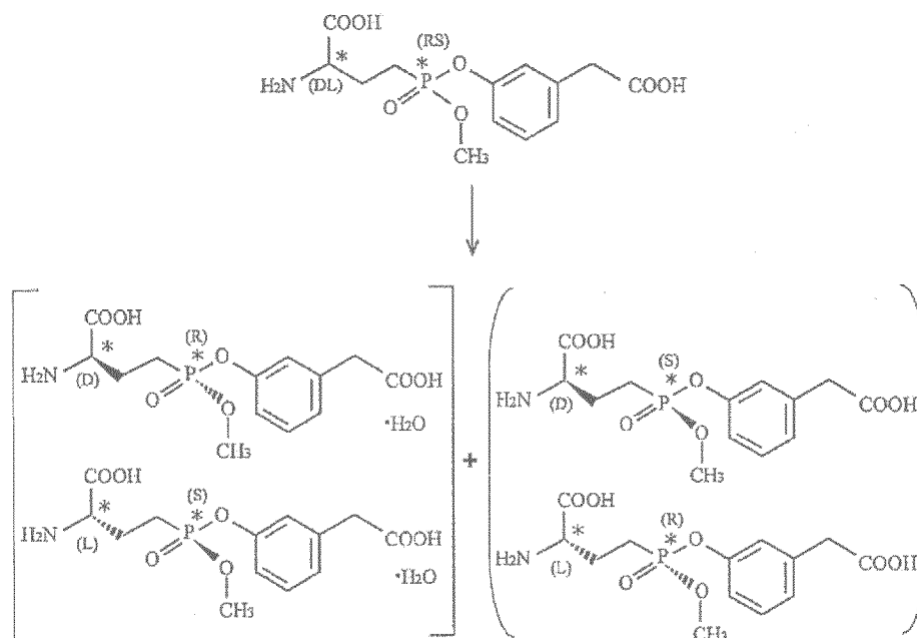
Algunos ejemplos no limitativos de los cosméticos para el cuidado de la piel incluyen cosméticos de maquillaje tales como base, sombra de ojos, rímel, lápiz o pintura de cejas, colorete de mejillas, lápiz de labios (carmin) y manicura; y cosméticos básicos para el cuidado de la piel como tales lociones (lociones faciales), lociones hidratantes y esencia de belleza.

Ejemplos

La presente invención se ilustrará con mayor detalle con referencia a los diversos ejemplos a continuación. Debe observarse, sin embargo, que los ejemplos no pretenden limitar, bajo ningún concepto, el alcance de la presente invención. En las fórmulas a continuación, Z representa benciloxicarbonilo; y Bn representa bencilo.

Ejemplo 1

[Fórmula Química 29]



El ácido DL-2-amino-4-[(RSp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico (nombre comercial GGsTop, suministrado por Wako Pure Chemical Industries, Ltd., dándose los resultados del análisis térmico del mismo en la Figura 3) (10,0 g) se disolvió en agua (10 ml) con calentamiento a 70 °C, y se combinó con etanol (45 ml), se sembró con una pequeña cantidad de cristales de monohidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico/monohidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico at 40 °C, seguido de agitación lenta a temperatura ambiente durante 2 días. La mezcla se agitó adicionalmente a 15 °C durante 3 horas para precipitar los cristales, los cristales precipitados se filtraron, se lavaron y se secaron, y produjeron cristales incoloros (3,86 g, con un rendimiento del 39 %). Los cristales incoloros resultantes (3,80 g) se pusieron en agua (3,8 ml) con calentamiento a 70 °C, y se combinaron y disolvieron en metanol (3,8 ml) y etanol (45 ml), seguido de agitación lenta a temperatura ambiente durante 2 días. La mezcla se agitó adicionalmente a 15 °C durante 3 horas para precipitar los cristales, los cristales precipitados se filtraron, se lavaron y se secaron, y produjeron cristales incoloros (3,10 g, con un rendimiento del 82 %). Los cristales incoloros (3,00 g) se recrystalizaron tres veces en una mezcla de disolventes que contenía agua (3,0 ml), metanol (6,0 ml), y etanol (30 ml), y produjeron, como cristales incoloros, una mezcla de cantidades iguales (2,21 g, con un rendimiento total del 24 %) de monohidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y monohidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico (dándose los resultados del análisis térmico de la misma en la Figura 4).

Pf (DSC): 106,3 °C,

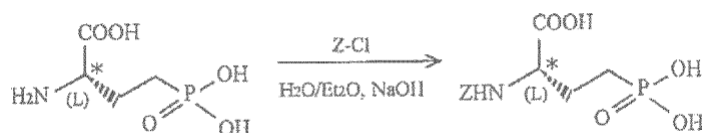
RMN de ^1H (600 MHz, D_2O) δ_{H} : 2,12-2,34 (4H, m), 3,74 (2H, s), 3,87 (3H, d, $J_{\text{H-P}} = 11,3$ Hz), 3,87-3,89 (1H, m), 7,16-7,17 (2H, m), 7,21 (1H, d a, $J_{\text{H-H}} = 7,9$ Hz), 7,42 (1H, dd $J_{\text{H-H}} = 7,9$ y 7,9 Hz).

RMN de ^{31}P (121 MHz, D_2O) δ_{P} : 32,5.

HRMS-FAB (m/z): $[\text{M} - \text{H}_2\text{O} + \text{H}]^+$ calculado para $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{NO}_7\text{P}$, 332,0899; encontrado, 332,0887.

Ejemplo 2

[Fórmula Química 30]



El ácido L-2-amino-4-fosfonobutanoico (1,55 g, 8,47 mmol) se combinó con agua (5 ml) y éter dietílico (7 ml), se enfriaron con hielo, y se combinaron y disolvieron en una solución de hidróxido de sodio (1,05 g, 26,3 mmol) en agua (10 ml), para dar una solución. A la solución, con agitación vigorosa, se le añadieron gradualmente, de forma alternada cloroforniato de bencilo (3,25 g, 19,1 mmol) e hidrogenocarbonato de sodio (1,10 g, 13,1 mmol). La mezcla resultante se agitó entonces muy vigorosamente hasta que desapareció el material de partida. La desaparición del material de partida se comprobó mediante TLC (eluyente: n-butanol/ácido acético/agua = 5/3/2 (v/v), reactivo colorante: ninhidrina).

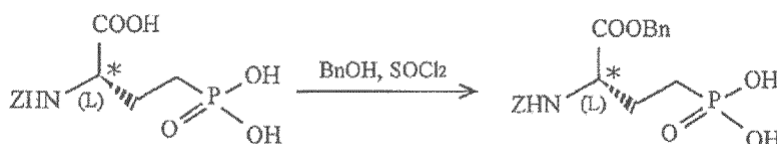
Después de dejarla reposar, la mezcla de reacción se separó líquido-líquido, y la capa acuosa se lavó con éter dietílico. La capa acuosa se combinó con ácido clorhídrico 6 N para que tuviera un pH de 1, y se extrajo con acetato de etilo.

La capa de acetato de etilo se separó líquido-líquido, se lavó con salmuera saturada, y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. El disolvente se retiró por destilación a 40 °C a presión reducida, el residuo se secó, y produjo ácido L-2-benciloxycarbonilamino-4-fosfonobutanoico sólido incoloro (2,64 g, con un rendimiento del 98 %).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} +1,8$ (c = 1, MeOH)

IR (cm^{-1}): 3300-2000 (an), 3320, 2309, 1755, 1731, 1694, 1656, 1549, 1427, 1356, 1240, 1204, 1167, 1153, 1113, 1061, 1008, 944, 731, 693.

[Fórmula Química 31]



Con enfriamiento con hielo, se añadió gota a gota cloruro de tionilo (2,45 g, 20,6 mmol) a alcohol bencílico (27 ml), y el ácido L-2-benciloxycarbonilamino-4-fosfonobutanoico preparado anteriormente (2,50 g, 7,88 mmol) se añadió a la misma mientras la mezcla se mantenía a 5 °C o menos. Esta mezcla de reacción se agitó continuamente a temperatura ambiente hasta que desapareció el material de partida. La desaparición del material de partida se comprobó usando TLC (eluyente: n-butanol/metanol/agua = 5/3/2 (v/v), detección: UV).

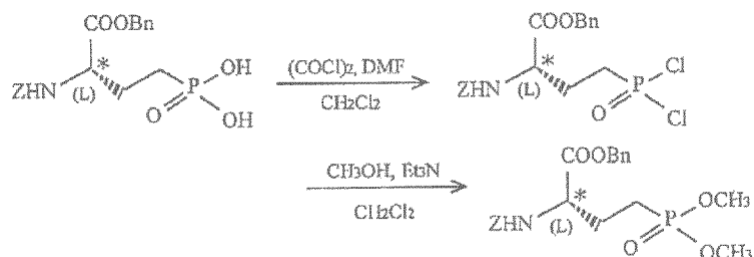
Después de la reacción, el exceso de alcohol bencílico se retiró por destilación a presión reducida, el residuo se disolvió en acetato de etilo, y se lavó con salmuera saturada.

La capa de acetato de etilo se separó líquido-líquido, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se concentró al vacío a 40 °C, el residuo se combinó con éter dietílico (25 ml), y se agitó durante una hora o más. Los cristales precipitados se filtraron, se secaron al vacío a 40 °C, y produjeron de esta manera L-2-benciloxycarbonilamino-4-fosfonobutanoato de bencilo en polvo (2,87 g, con un rendimiento del 89 %).

$[\alpha]_{\text{D}}^{25} -15,8$ (c = 1, MeOH)

IR (cm^{-1}): 3324, 3200-2500 (an), 3033, 2951, 2895, 1734, 1679, 1524, 1346, 1184, 1051, 997, 981, 940, 749, 696.

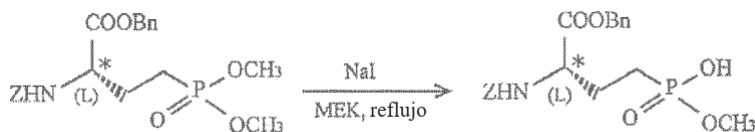
[Fórmula Química 32]



El L-2-benciloxycarbonylamino-4-fosfonobutanoato de bencilo preparado (2,70 g, 6,63 mmol) se suspendió en diclorometano (13 ml), se combinó con una cantidad catalítica de dimetilformamida, y se combinó con dicloruro de oxalilo (1,90 g, 15,0 mmol) añadido gota a gota al mismo. Después de agitarla un rato a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró al vacío, y produjo una sustancia oleosa de color marrón. Esta se disolvió en diclorometano (20 ml), se combinó con metanol (0,48 g, 15,0 mmol) mediante enfriamiento con hielo, y después se combinó con trietilamina (1,43 g, 14,1 mmol) añadida gota a gota a la misma. Una vez completada la adición gota a gota, la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se combinó con gel de sílice (6,6 g), se concentró al vacío, y se combinó con acetato de etilo (40 ml), seguido de agitación minuciosa. Esta se filtró, el filtrado se concentró y se secó al vacío a 40 °C, y produjo L-2-benciloxycarbonylamino-4-(dimetoxifosforil)butanoato de bencilo oleoso de color marrón (2,61 g, con un rendimiento del 90 %). $[\alpha]_D^{25}$ -20,5 (c = 1, MeOH), 99,9 % ee (columna: CHIRALPAK IB (5 μ m, 4,6 mm de diámetro por 250 mm); fase móvil: n-hexano/etanol = 95/5 (v/v); caudal: 1,0 ml/min; temperatura: 25 °C; longitud de onda de detección: UV 220 nm)

IR (cm⁻¹): 3248, 3063, 3033, 2953, 2851, 1716, 1534, 1498, 1454, 1240, 1213, 1174, 1025, 816, 737, 696.

[Fórmula Química 33]

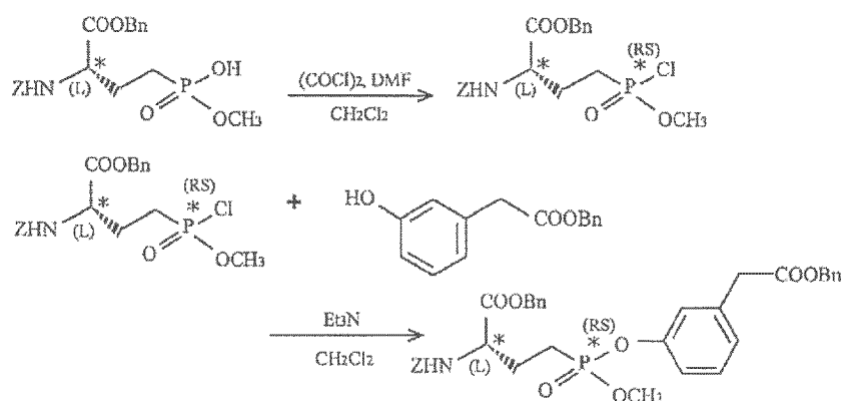


El L-2-benciloxycarbonylamino-4-(dimetoxifosforil)butanoato de bencilo preparado (2,40 g, 5,51 mmol) se disolvió en metil etil cetona (50 ml), se combinó con yoduro de sodio (1,32 g, 8,81 mmol), y se sometió a reflujo durante 4 horas. Después de comprobar que el material de partida desapareció aproximadamente usando TLC (eluyente: cloroformo/metanol/ácido acético = 85/15/3 (v/v), detección: UV), la mezcla de reacción se concentró al vacío, y se combinó y disolvió en agua (50 ml). Esto se combinó con ácido clorhídrico 6 N para que fuera ácido, la sustancia oleosa precipitada de color marrón amarillento se extrajo con diclorometano, y se secó sobre sulfato de magnesio anhidro. La sustancia resultante se concentró y se secó al vacío a 40 °C para eliminar el disolvente, y produjo L-2-benciloxycarbonylamino-4-(hidroximetoxifosforil)butanoato de bencilo oleoso marrón (2,27 g, con un rendimiento del 98 %).

$[\alpha]_D^{25}$ -17,6 (c = 1, MeOH)

IR (cm⁻¹): 3314, 3290, 3056, 3033, 2968, 2955, 2895, 1726, 1698, 1679, 1537, 1269, 1228, 1202, 1148, 1039, 965, 820, 753, 697.

[Fórmula Química 34]

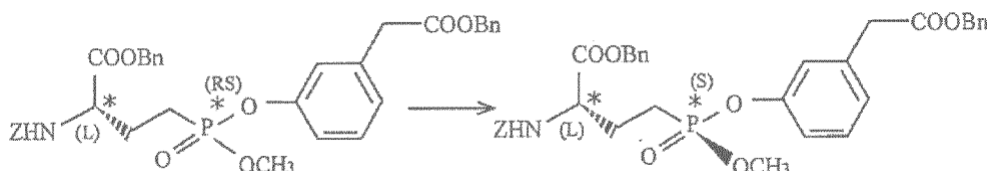


El L-2-benciloxycarbonilamino-4-(hidroximetoxifosforil)butanoato de bencilo preparado (2,22 g, 5,27 mmol) se disolvió en diclorometano (20 ml), se combinó con una cantidad catalítica de dimetilformamida, se combinó con dicloruro de oxalilo (0,82 g, 6,46 mmol) añadido gota a gota, y se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío, la sustancia oleosa marrón resultante se disolvió en diclorometano (20 ml), se combinó con 3-hidroxifenilacetato de bencilo (1,29 g, 5,32 mmol), y se enfrió con hielo. Esto se combinó con trietilamina (0,66 g, 6,52 mmol) añadida gota a gota y se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se concentró al vacío, el residuo se sometió a cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo = 4/1 a 1/2 (v/v)), y produjo L-2-benciloxycarbonilamino-4-[(RSp)-(3-benciloxycarbonilmetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoato de bencilo oleoso amarillo (2,39 g, con un rendimiento del 70 %).

$[\alpha]_D^{25} -10,8$ ($c = 1$, MeOH), 99,9 % ee (columna: CHIRALPAK IB (5 μ m, 4,6 mm de diámetro por 250 mm); fase móvil: n-hexano/etanol = 95/5 (v/v); caudal: 1,0 ml/min; temperatura: 30 °C; longitud de onda de detección: UV 220 nm)

IR (cm⁻¹): 3269, 3063, 3033, 2953, 2852, 1953, 1868, 1721, 1239, 1143, 1041, 1005, 972, 857, 736, 696.

[Fórmula Química 35]



El L-2-benciloxycarbonilamino-4-[(RSp)-(3-benciloxycarbonilmetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoato de bencilo preparado (2,00 g) se disolvió en acetato de etilo (32 ml), al cual se añadió heptano (62 ml) gradualmente. La solución resultante se sembró con una pequeña cantidad de cristales de L-2-benciloxycarbonilamino-4-[(Sp)-(3-benciloxycarbonilmetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoato de bencilo, seguido de agitación a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de dejarla reposar en un frigorífico durante una noche, la mezcla se combinó adicionalmente con heptano (10 ml), y se agitó a temperatura ambiente durante 3 horas. Posteriormente, esta operación se repitió durante 7 días, la mezcla resultante se combinó con heptano (16,5 ml en total), se dejó reposar en un frigorífico, y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Los cristales precipitados se filtraron, se lavaron, se secaron a 40 °C, y produjeron L-2-benciloxycarbonilamino-4-[(Sp)-(3-benciloxycarbonilmetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoato de bencilo (0,51 g, con un rendimiento del 26 %).

$[\alpha]_D^{25} -16,7$ ($c = 1$, MeOH), 73,3 % de (columna: CHIRALPAK IB (5 μ m, 4,6 mm de diámetro por 250 mm); fase móvil: n-hexano/etanol = 95/5 (v/v); caudal: 1.0 ml/min; temperatura: 25 °C; longitud de onda de detección: UV 220 nm)

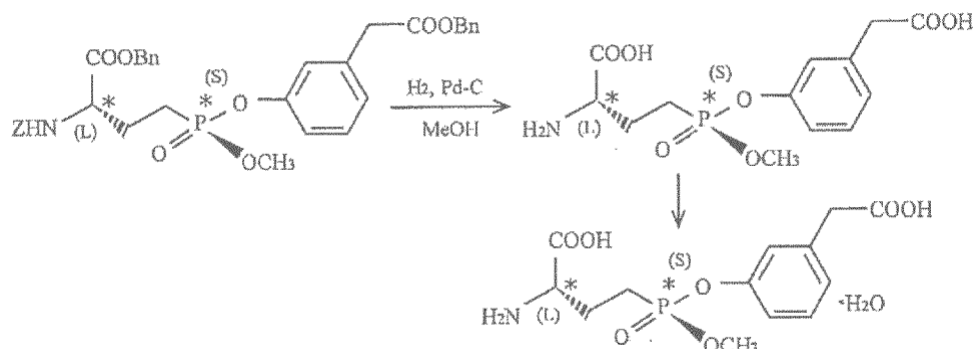
El L-2-benciloxycarbonilamino-4-[(Sp)-(3-benciloxycarbonilmetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoato de bencilo preparado (0,49 g) se disolvió en acetato de etilo (16 ml), se combinó con heptano (43,3 ml) añadido gradualmente al mismo, y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Después de dejarlo reposar en un frigorífico durante dos noches, la mezcla se combinó adicionalmente con heptano (4,0- ml), y se dejó reposar en un frigorífico durante una noche. Los cristales precipitados se filtraron, se lavaron, se secaron al vacío a 40 °C, y produjeron L-2-benciloxycarbonilamino-4-[(Sp)-(3-benciloxycarbonilmetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoato de bencilo (0,35 g, con un rendimiento del 71 %).

$[\alpha]_D^{25} -18,8$ ($c = 1$, MeOH), 97,5 % de (columna: CHIRALPAK IB (5 μ m, 4,6 mm de diámetro por 250 mm); fase móvil: n-hexano/etanol = 95/5 (v/v); caudal: 1.0 ml/min; temperatura: 25 °C; longitud de onda de detección: UV 220 nm)

IR (cm⁻¹): 3278, 3186, 3068, 3036, 2986, 2958, 2921, 2890, 2857, 1744, 1718, 1234, 1151, 1135, 1046, 990, 850, 751,

737, 697, 684.

[Fórmula Química 36]



5

El L-2-benciloxycarbonilamino-4-[(Sp)-(3-benciloxycarbonilmetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoato de bencilo preparado (300 mg, 0,465 mmol) se disolvió en metanol (10 ml), se combinó con paladio sobre carbono al 10 % (22 mg) mientras se purgaba el sistema con nitrógeno gaseoso, y la mezcla de reacción se agitó entonces a temperatura ambiente durante 2 horas mientras se soplaba hidrógeno gaseoso a su interior. Una vez completada la reacción, el paladio sobre carbono se retiró por filtración utilizando Celite, el filtrado se concentró al vacío, el residuo se disolvió en agua (10 ml), y se lavó con tolueno (2,5 ml) tres veces. La solución acuosa se concentró al vacío, el residuo se combinó con etanol (2,5 ml), y se dejó reposar en un frigorífico durante una noche. La mezcla se sometió a sonicación según fue apropiado, se dejó reposar adicionalmente en un frigorífico durante una noche, los cristales precipitados se filtraron, se lavaron, se secaron al vacío a 40 °C, y produjeron, como cristales incoloros, monohidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico (134 mg, con un rendimiento del 83 %). Los resultados del análisis térmico del compuesto resultante se dan en la Figura 5.

10

15

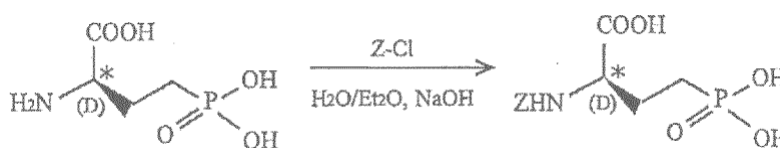
Pf (DSC): 98,4 °C, $[\alpha]_D^{25}$ -4,4 (c0,5, H₂O), 99,9 % ee (columna: OA-6100 (5 µm, 4.6 mm de diámetro por 150 mm); fase móvil: solución acuosa de acetonitrilo al 10 % que contiene sulfato de cobre 2 mM; caudal: 1,0 ml/min; temperatura: 30 °C; longitud de onda de detección: UV 254 nm)

20

IR (cm⁻¹): 3600-2300 (an), 1683, 1583, 1537, 1485, 1392, 1248, 1144, 1045, 982, 780.

25 Ejemplo 3

[Fórmula Química 37]



30

El ácido D-2-amino-4-fosfonobutanoico (1,83 g, 10,0 mmol) se combinó con agua (10 ml) y éter dietílico (7,5 ml), se enfrió con hielo, y se combinaron y disolvieron en una solución de hidróxido de sodio (1,20 g, 30,0 mmol) en agua (10 ml). A la solución resultante con agitación vigorosa, se le añadieron gradualmente cloroformato de bencilo (3,54 g, 20,8 mmol) e hidrogenocarbonato de sodio (1,36 g, 16,2 mmol), y la mezcla se agitó continuamente de forma vigorosa a temperatura ambiente hasta que desapareció el material de partida. La desaparición del material de partida se comprobó usando TLC (eluyente: cloroformo/metanol/ácido acético = 85/15/3 (v/v), reactivo colorante: ninhidrina).

35

Después de dejarla reposar, la mezcla de reacción se separó líquido-líquido, la capa acuosa se lavó con éter dietílico, la capa acuosa resultante se combinó con ácido clorhídrico 6 N para que tuviera un pH de 1, y se extrajo con acetato de etilo.

40

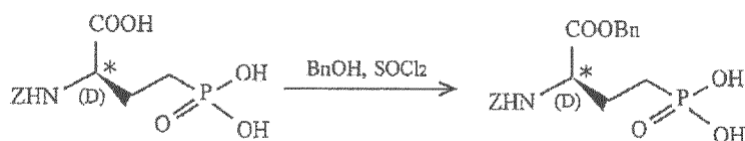
La capa de acetato de etilo se separó líquido-líquido, se lavó con salmuera saturada, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, del cual el disolvente se retiró por destilación a 40 °C a presión reducida, el residuo se secó, y produjo, como un sólido incoloro, ácido D-2-(benciloxycarbonil)amino-4-fosfonobutanoico (2,92 g, con un rendimiento del 92 %).

45

$[\alpha]_D^{25}$ -2,0 (c = 1, MeOH)

IR (cm⁻¹): 3300-2000 (an), 3318, 2286, 1754, 1730, 1694, 1654, 1548, 1428, 1356, 1240, 1205, 1168, 1153, 1113, 1062, 1008, 945, 732, 693.

[Fórmula Química 38]



5

Mediante enfriamiento con hielo, se añadió cloruro de tionilo (2,45 g, 20,6 mmol) gota a gota a alcohol bencílico (27 ml), y la mezcla, mientras se mantenía a 5 °C o menos, se combinó con el ácido D-2-(benciloxycarbonil)amino-4-fosfonobutanoico preparado (2,50 g, 7,88 mmol). Esta mezcla de reacción se agitó continuamente a temperatura ambiente hasta que desapareció el material de partida. La desaparición del material de partida se comprobó usando

10

TLC (eluyente: n-butanol/metanol/agua = 5/2/2 (v/v), detección: UV).

Después de la reacción, el exceso de alcohol bencílico se retiró por destilación a presión reducida, el residuo se disolvió en acetato de etilo, y se lavó con salmuera saturada.

15

La capa de acetato de etilo se separó líquido-líquido, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se concentró al vacío a 40 °C, el residuo se combinó con éter dietílico (40 ml), y se agitó durante una hora o más. Los cristales precipitados se recogieron por filtración, se secaron al vacío a 40 °C, y produjeron D-2-benciloxycarbonilamino-4-fosfonobutanoato de bencilo (3,00 g, con un rendimiento del 93 %).

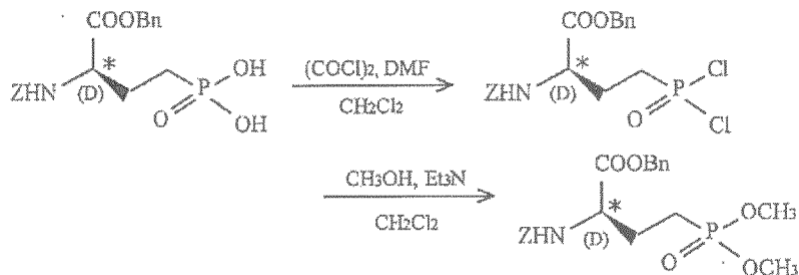
20

$[\alpha]_D^{25} +15,8$ (c = 1, MeOH)

IR (cm⁻¹): 3324, 3200-2500 (an), 3033, 2951, 2894, 1734, 1679, 1524, 1347, 1186, 1052, 997, 981, 940, 749, 696.

[Fórmula Química 39]

25



30

El D-2-benciloxycarbonilamino-4-fosfonobutanoato de bencilo preparado (2,80 g, 6,87 mmol) se suspendió en diclorometano (20 ml), se combinó con una cantidad catalítica de dimetilformamida, y se combinó adicionalmente con dicloruro de oxalilo (2,00 g, 15,8 mmol) añadido gota a gota al mismo.

35

Después de agitarla un rato a temperatura ambiente, la mezcla de reacción se concentró al vacío, y produjo una sustancia amarilla oleosa. Esta se disolvió en diclorometano (25 ml), se combinó mediante enfriamiento con hielo con metanol (0,50 g, 15,6 mmol), y se combinó adicionalmente con trietilamina (1,45 g, 14,3 mmol) añadido gota a gota, seguido de agitación a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se combinó con gel de sílice (17 g), se concentró al vacío, se combinó con acetato de etilo (300 ml), y se agitó minuciosamente. Esta se filtró, el filtrado se concentró y se secó al vacío a 40 °C, y produjo D-2-benciloxycarbonilamino-4-(dimetoxifosforil)butanoato de bencilo oleoso (2,55 g, con un rendimiento del 85 %).

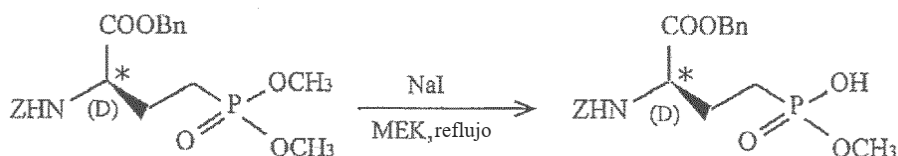
40

$[\alpha]_D^{25} +19,8$ (c = 1, MeOH), 99,7 % ee (columna: CHIRALPAK IB (5 µm, 4,6 mm de diámetro por 250 mm); fase móvil: n-hexano/etanol = 95/5 (v/v); caudal: 1,0 ml/min; temperatura: 25 °C; longitud de onda de detección: UV 220 nm)

IR (cm⁻¹): 3245, 3063, 3033, 2953, 2851, 1716, 1536, 1498, 1454, 1242, 1213, 1173, 1025, 815, 737, 696.

45

[Fórmula Química 40]

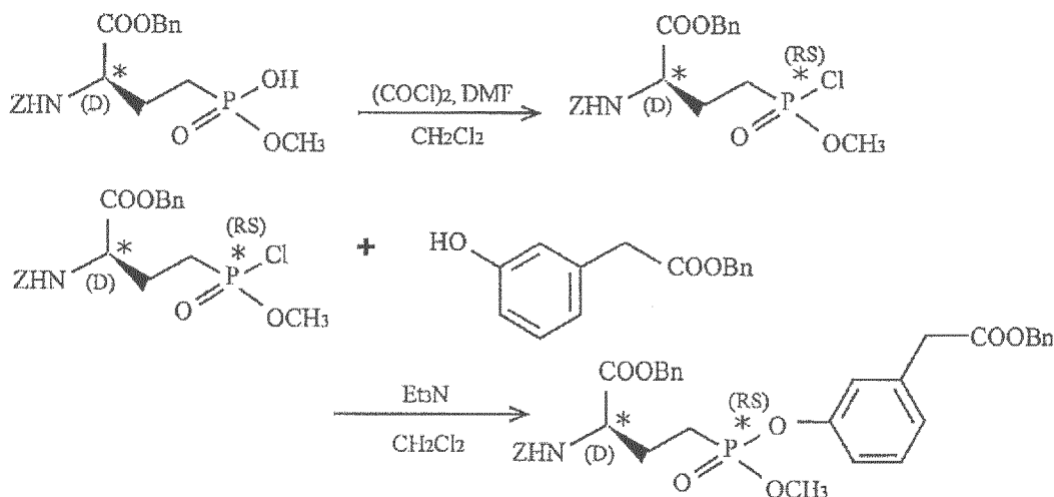


El D-2-benciloxycarbonilamino-4-(dimetoxifosforil)butanoato de bencilo preparado (2,40 g, 5,51 mmol) se disolvió en metil etil cetona (60 ml), se combinó con yoduro de sodio (1,40 g, 9,34 mmol), y la mezcla se sometió a reflujo durante 7 horas. Después de comprobar que el material de partida casi había desaparecido utilizando TLC (eluyente: cloroformo/metanol/ácido acético = 85/15/3 (v/v), detección: UV), la mezcla de reacción se concentró al vacío y se combinó y disolvió en agua (60 ml). La solución acuosa resultante se combinó con ácido clorhídrico 6 N para que fuera ácida, se extrajo una sustancia oleosa precipitada marrón amarillenta con diclorometano, se secó sobre sulfato de magnesio anhidro, se concentró y se secó al vacío a 40 °C para eliminar el disolvente, y produjo, como un sólido marrón, D-2-benciloxycarbonilamino-4-(hidroximetoxifosforil)butanoato de bencilo (2,32 g, con un rendimiento cuantitativo).

$[\alpha]_D^{25} +17,5$ (c = 1, MeOH)

IR (cm⁻¹): 3314, 3290, 3058, 3033, 2968, 2955, 2896, 1726, 1698, 1679, 1538, 1269, 1228, 1202, 1148, 1039, 965, 820, 753, 697.

[Fórmula Química 41]

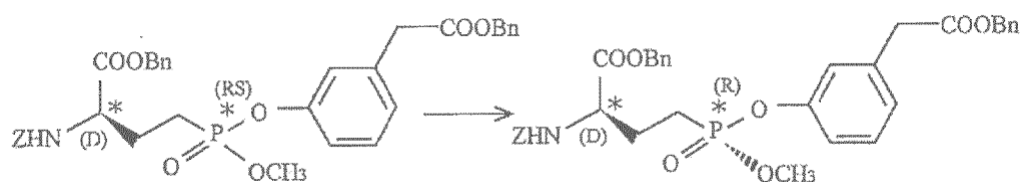


El D-2-benciloxycarbonilamino-4-(hidroximetoxifosforil)butanoato de bencilo preparado (2,10 g, 4,98 mmol) se disolvió en diclorometano (20 ml), se combinó con una cantidad catalítica de dimetilformamida, se combinó con dicloruro de oxalilo (0,74 g, 5,83 mmol) añadido gota a gota, y la mezcla se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. La mezcla de reacción se concentró al vacío, la sustancia oleosa marrón resultante se disolvió en diclorometano (20 ml), se combinó con 3-hidroxifenilacetato de bencilo (1,15 g, 4,75 mmol), y se enfrió con hielo. Esta se combinó con trietilamina (0,58 g, 5,73 mmol) añadida gota a gota y se agitó adicionalmente a temperatura ambiente durante una noche. La mezcla de reacción se combinó con gel de sílice (10 g), se concentró al vacío, el residuo se sometió a cromatografía en columna de gel de sílice (hexano/acetato de etilo = 4/1 a 1/3 (v/v)), y produjo D-2-benciloxycarbonilamino-4-[(RSp)-(3-benciloxycarbonilmetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoato de bencilo oleoso amarillo (2,39 g, con un rendimiento del 78 %).

$[\alpha]_D^{25} +10,6$ (c = 1, MeOH), 99,2 % ee (columna: CHIRALPAK IB (5 µm, 4,6 mm de diámetro por 250 mm); fase móvil: n-hexano/etanol = 95/5 (v/v); caudal: 1,0 ml/min; temperatura: 25 °C; longitud de onda de detección: UV 220 nm)

IR (cm⁻¹): 3267, 3063, 3033, 2954, 2852, 1953, 1875, 1721, 1239, 1143, 1041, 1005, 972, 856, 736, 696.

[Fórmula Química 42]



El D-2-benciloxycarbonilamino-4-[(R,S)-(3-benciloxycarbonilmetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoato de bencilo preparado (1,45 g) se disolvió en acetato de etilo (23,3 ml) y se combinó con heptano (43,0 ml) añadido gradualmente al mismo. La solución resultante se sembró con una pequeña cantidad de cristales de D-2-benciloxycarbonilamino-4-[(R,S)-(3-benciloxycarbonilmetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoato de bencilo, y se agitó a temperatura ambiente durante 2 horas. Después de dejarla reposar en un frigorífico durante una noche, la mezcla se combinó adicionalmente con heptano (14,5 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Posteriormente esta operación se repitió durante 7 días, la mezcla resultante se combinó adicionalmente con heptano (7,0 ml), se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas, los cristales precipitados se filtraron, se lavaron, se secaron al vacío a 40 °C, y produjeron D-2-benciloxycarbonilamino-4-[(R,S)-(3-benciloxycarbonilmetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoato de bencilo incoloro, en polvo (0,32 g, con un rendimiento del 22 %).

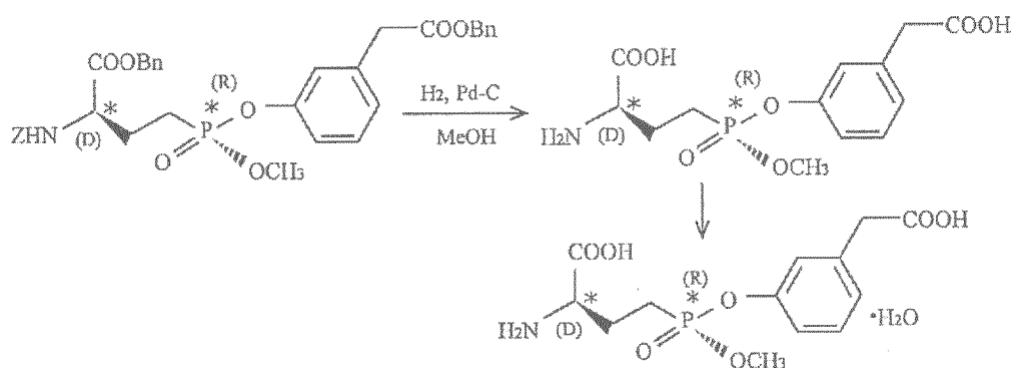
$[\alpha]_D^{25} +18,2$ ($c = 1$, MeOH), 93,3 % de (columna: CHIRALPAK IB (5 μ m, 4,6 mm de diámetro por 250 mm); fase móvil: n-hexano/etanol = 95/5 (v/v); caudal: 1,0 ml/min; temperatura: 25 °C; longitud de onda de detección: UV 260 nm)

El D-2-benciloxycarbonilamino-4-[(R,S)-(3-benciloxycarbonilmetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoato de bencilo preparado (0,32 g) se disolvió en acetato de etilo (10 ml), se combinó con heptano (27,7 ml) añadido gradualmente al mismo, y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Después de dejarla reposar en un frigorífico durante una noche, la mezcla se combinó adicionalmente con heptano (5 ml) y se agitó a temperatura ambiente durante 4 horas. Los cristales precipitados se filtraron, se lavaron, se secaron al vacío a 40 °C, y produjeron D-2-benciloxycarbonilamino-4-[(R,S)-(3-benciloxycarbonilmetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoato de bencilo incoloro, en polvo (0,29 g, con un rendimiento del 91 %).

$[\alpha]_D^{25} +18,8$ ($c = 1$, MeOH), 97,9 % de (columna: CHIRALPAK IB (5 μ m, 4,6 mm de diámetro por 250 mm); fase móvil: n-hexano/etanol = 95/5 (v/v); caudal: 1,0 ml/min; temperatura: 25 °C; longitud de onda de detección: UV 260 nm)

IR (cm^{-1}): 3277, 3186, 3068, 3037, 2987, 2958, 2921, 2891, 2857, 1744, 1718, 1234, 1151, 1.130, 1046, 990, 850, 751, 737, 697, 684.

[Fórmula Química 43]



El D-2-benciloxycarbonilamino-4-[(R,S)-(3-benciloxycarbonilmetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoato de bencilo preparado (220 mg, 0,341 mmol) se disolvió en metanol (10 ml), se combinó con paladio sobre carbono al 10 % (22 mg) mientras se purgaba el sistema con nitrógeno gaseoso, y la mezcla de reacción se agitó entonces a temperatura ambiente durante 2 horas soplando hidrógeno gaseoso a su interior. Una vez completada la reacción, el paladio sobre carbono se retiró por filtración utilizando Celite, el filtrado se concentró al vacío, el residuo se disolvió en agua (10 ml), y se lavó con tolueno (2,5 ml) tres veces. La solución acuosa se concentró al vacío, el residuo se combinó con etanol (2 ml), y se dejó reposar en un frigorífico durante una noche. La mezcla se sometió a sonicación según fue apropiado, se dejó reposar adicionalmente en un frigorífico durante una noche, los cristales precipitados se filtraron, se lavaron, se secaron al vacío a 40 °C, y produjeron, como cristales incoloros, monohidrato del ácido D-2-amino-4-[(R,S)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico (99 mg, con un rendimiento del 83 %). Los resultados del análisis térmico del compuesto resultante se dan en la Figura 6.

Pf (DSC): 108,2 °C, $[\alpha]_D^{25} +4,4$ ($c = 0,5$, H₂O), $[\alpha]_D^{25} +9,6$ ($c = 0,25$, MeOH), 99,9 % ee (columna: OA-6100 (5 μ m, 4,6 mm de diámetro por 150 mm); fase móvil: solución acuosa de acetonitrilo al 10 % que contiene sulfato de cobre 2 mM;

caudal: 1,0 ml/min; temperatura: 30 °C; longitud de onda de detección: UV 254 nm)

IR (cm⁻¹): 3600-2300 (an), 1683, 1584, 1537, 1485, 1392, 1249, 1145, 1046, 983, 780.

- 5 La mezcla de cantidades iguales obtenida en el Ejemplo 1 se utilizó como muestra, y se evaluó para promover la actividad de producción de glutatión mediante el siguiente procedimiento.

10 Específicamente, se inocularon células epidérmicas humanas normales en una microplaca de 96 pocillos que contenía un medio de crecimiento de queratinocitos epidérmicos humanos normales (nombre comercial HuMedia KG2, suministrado por Kurabo Industries Ltd.) a una densidad celular de $2,0 \times 10^4$ células por 96 pocillos.

15 Veinticuatro (24) horas después de la inoculación, se cambió el medio por un medio de crecimiento de queratinocitos epidérmicos humanos normales (nombre comercial HuMedia KB2, suministrado por Kurabo Industries Ltd.) que contenía la muestra a una concentración predeterminada, y se continuó el cultivo.

20 Como control positivo, se realizó un cultivo por un procedimiento similar al anterior, salvo que se utilizó, en lugar de la muestra, Nahlsge (ácido DL-2-amino-4-[(RSp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico, nombre comercial GGsTop, suministrado por Wako Pure Chemical Industries, Ltd.).

25 Como blanco, se realizó un cultivo por un procedimiento similar al anterior, salvo que no se utilizó la muestra.

Después de cultivarlas durante 24 horas, las células se disolvieron por ultrasonificación utilizando un tampón de ácido fosfórico que contenía fluoruro de fenilmetilsulfonilo 100 µM, y la cantidad total de glutatión se midió cuantitativamente mediante el ensayo de reciclaje de glutatión reductasa que se mencionará posteriormente.

25 Específicamente, la suspensión celular homogeneizada se combinó con fosfato de nicotinamida adenina dinucleótido reducido y glutatión reductasa, seguido de reacción a 37 °C durante 10 minutos.

30 A continuación, se añadió una solución tampón de fosfato 0,1 M (que contenía EDTA 0,5 M, pH 7,5) que contenía ácido 5,5'-ditiobis(2-nitrobenzoico) 10 mM, se midió la absorbancia (a 450 nm) inmediatamente después de la adición, y después de 30 minutos de incubación, y la diferencia entre dos mediciones ((absorbancia después de 30 minutos de incubación)-(absorbancia inmediatamente después de la adición)) se definió como índice de la cantidad de síntesis de glutatión.

35 La cantidad total de glutatión en la suspensión celular homogeneizada se calculó a partir de una curva de calibración trazada con glutatión oxidado. El contenido de proteína en la suspensión celular homogeneizada se determinó cuantitativamente utilizando el Kit para Ensayo de Proteínas Pierce Microplate BCA (Thermo SCIENTIFIC). Se evaluó la cantidad de síntesis de glutatión para ver si había diferencias con la muestra no tratada (blanco) y con el control positivo mediante un ensayo de diferencia significativa utilizando el ensayo t de Student. Los resultados se dan en la siguiente tabla.

[Tabla 1]

TABLA 1

	Conc.	GSH (pmol/µg proteína)				Proteína (µg/pocillo)		
	(µmol/l)	Media	D.T.	p1	p2	Media	D.T.	p1
Blanco (no tratado)	0,00	41,0	±3,2	1,000	-	11,8	±0,7	1,000
Nahlsge	10,00	44,7	±2,7	0,129	1,000	13,9	±0,4	0,002
Mezcla diastereomérica del Ejemplo 1	2,00	44,2	±3,3	0,216	-	13,1	±0,5	0,022
	10,00	48,1	±0,7	0,005	0,052	12,6	±0,3	0,063
	50,00	38,0	±7,2	0,470	-	13,2	±0,3	0,007
	250,00	41,5	±9,6	0,926	-	13,5	±0,6	0,008

45 p1: Diferencia significativa respecto al blanco

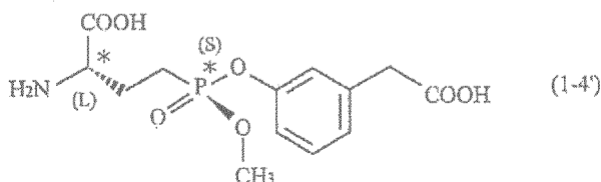
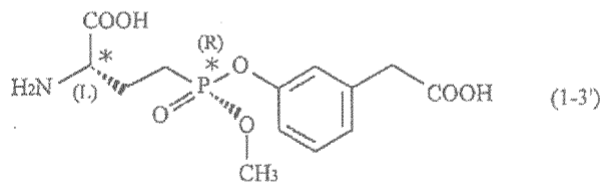
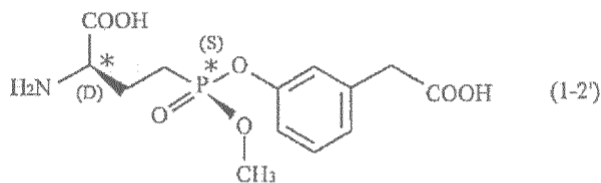
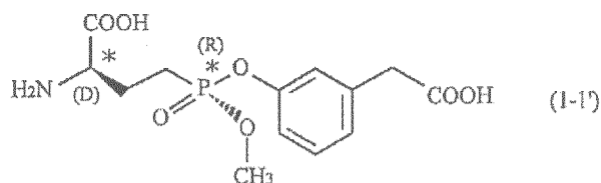
p2: Diferencia significativa respecto a Nahlsge a la misma concentración

50 La Tabla 1 demostró que, en comparación con el blanco (células no tratadas), las células tratadas con la mezcla de cantidades iguales obtenida en el Ejemplo 1 ofrecían una cantidad de glutatión (GSH) significativamente mayor o mejor que las células tratadas con Nahlsge. Estos resultados demostraron que la mezcla de un hidrato de D-GGsTop(R) y un hidrato de L-GGsTop(S) de acuerdo con la presente invención tiene excelentes actividades de promoción de la producción de glutatión tan buena o mejor que el Nahlsge.

REIVINDICACIONES

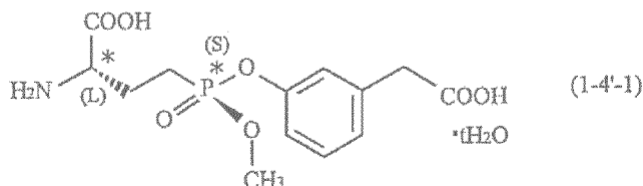
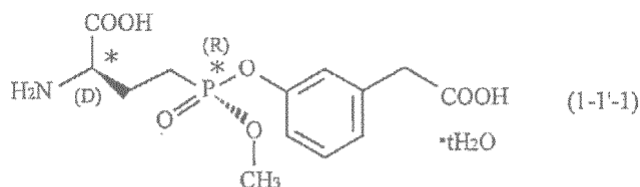
1. Un método para producir una mezcla de un hidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un hidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico, comprendiendo el método someter una mezcla de cuatro isómeros ópticos representados por las Fórmulas (1-1') a (1-4') a cristalización fraccionada en agua o en una mezcla de disolventes de agua y un disolvente orgánico soluble en agua, para precipitar una mezcla de un hidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-1'-1) y un hidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-4'-1), estando expresadas las Fórmulas (1-1') a (1-4') y las Fórmulas (1-1'-1) y (1-4'-1) como sigue:

[Fórmula Química 1]



donde los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos,

[Fórmula Química 2]



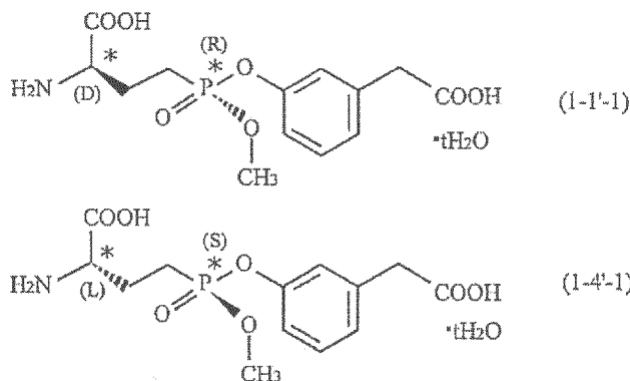
donde t representa un número mayor que 0; y * es como se ha definido anteriormente.

2. Una mezcla de un hidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado

por la Fórmula (1-1'-1) y un hidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-4'-1), Fórmulas (1-1'-1) y (1-4'-1) expresadas como sigue:

[Fórmula Química 3]

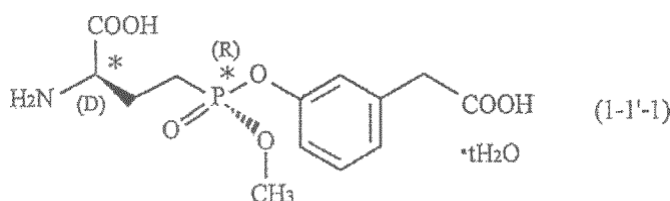
5



donde los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos; y t representa un número mayor que 0.

- 10 3. Un hidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-1'-1):

[Fórmula Química 4]

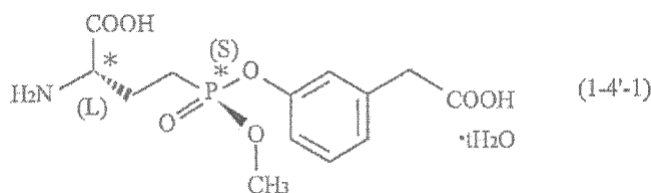


15

donde los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos; y t representa un número mayor que 0.

- 20 4. Un hidrato del ácido an L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-4'-1):

[Fórmula Química 5]



25

donde los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos; y t representa un número mayor que 0.

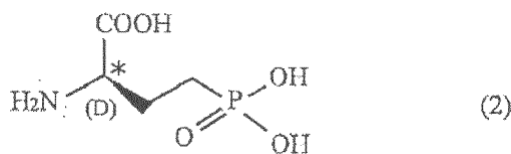
- 30 5. Un método para producir una mezcla diastereomérica de un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico, comprendiendo el método

35 esterificar el resto ácido fosfónico del ácido D-2-amino-4- fosfonobutanoico representado por la Fórmula (2) para dar una mezcla diastereomérica, representada por la Fórmula (2-1), de un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico,

expresándose las Fórmulas (2) y (2-1) como sigue:

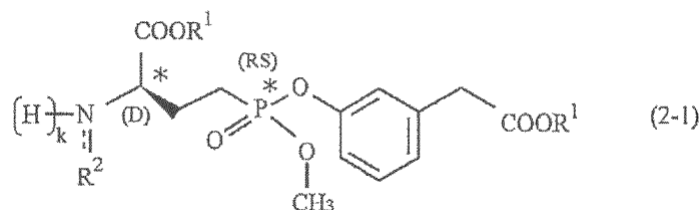
[Fórmula Química 6]

40



donde el átomo marcado con un asterisco (*) indica un átomo asimétrico,

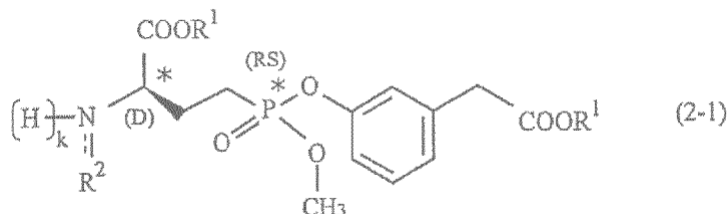
5 [Fórmula Química 7]



donde R¹, de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi;
R² se selecciona de benciloxycarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido;
k representa 0 o 1, donde cuando R² es benciloxycarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo
de nitrógeno especificado y R² es un enlace sencillo, y cuando R² es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o
difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un doble
enlace; y * es como se ha definido anteriormente.

6. Una mezcla diastereomérica de un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico, estando representada la mezcla diastereomérica por la Fórmula (2-1):

[Fórmula Química 8]

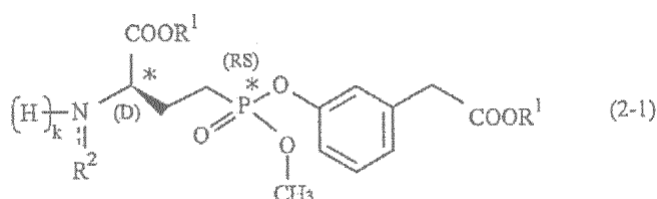


donde R¹, de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi;
R² se selecciona de benciloxycarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido;
k representa 0 o 1, donde cuando R² es benciloxycarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo
de nitrógeno especificado y R² es un enlace sencillo, y cuando R² es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o
difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un doble
enlace; y los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos.

7. Un método para resolver ópticamente una mezcla diastereomérica de un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico, comprendiendo el método

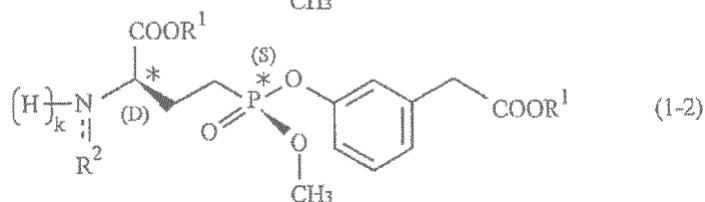
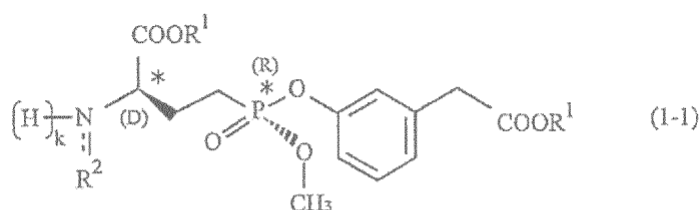
someter una mezcla diastereomérica, representada por la Fórmula (2-1), de un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico a cristalización fraccionada, para dar uno de los isómeros ópticos representados por las Fórmulas (1-1) y (1-2), Fórmulas (2-1), (1-1), y (1-2) expresadas como sigue:

[Fórmula Química 9]



donde R^1 , de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi;
 R^2 se selecciona de benciloxycarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido;
 k representa 0 o 1, donde cuando R^2 es benciloxycarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo
 de nitrógeno especificado y R^2 es un enlace sencillo, y cuando R^2 es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o
 difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R^2 es un doble
 enlace; y los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos,

[Fórmula Química 10]



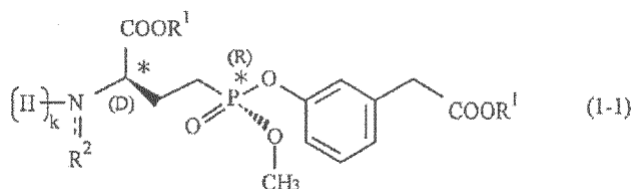
donde R^1 , R^2 , k, y * son como se han definido anteriormente.

8. Un método para producir un hidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico, comprendiendo el método:

someter un derivado del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representada por las
 Fórmulas (1-1) a un tratamiento de desprotección para dar un ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-1'); y

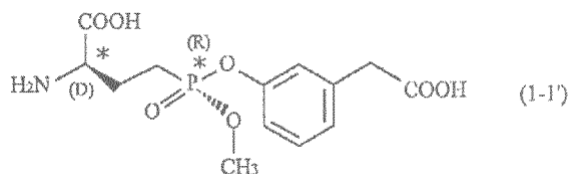
someter el ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico resultante a cristalización en agua
 o en una mezcla de disolventes de agua y un disolvente orgánico soluble en agua, para dar un hidrato del ácido D-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-1'-1), Fórmulas (1-1), (1-1'), y (1-1'-1) expresadas como sigue:

[Fórmula Química 11]



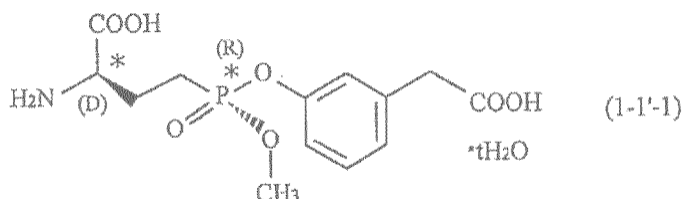
donde R^1 , de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi;
 R^2 se selecciona de benciloxycarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido;
 k representa 0 o 1, donde cuando R^2 es benciloxycarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo
 de nitrógeno especificado y R^2 es un enlace sencillo, y cuando R^2 es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o
 difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R^2 es un doble
 enlace; y los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos,

[Fórmula Química 12]



donde * es como se ha definido anteriormente,

5 [Fórmula Química 13]



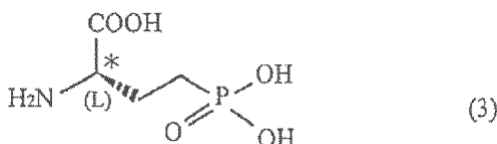
donde los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos; y t representa un número mayor que 0.

10 9. Un método para producir una mezcla diastereomérica de un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico, comprendiendo el método

15 esterificar el resto ácido fosfónico del ácido L-2-amino-4- fosfonobutanoico representado por la Fórmula (3) para dar una mezcla diastereomérica, representada por la Fórmula (3-1), de un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico

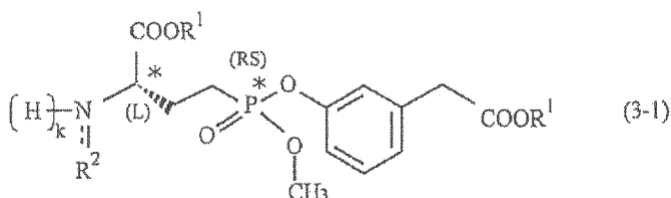
20 expresándose las Fórmulas (3) y (3-1) como sigue:

[Fórmula Química 14]



25 donde el átomo marcado con un asterisco (*) indica un átomo asimétrico,

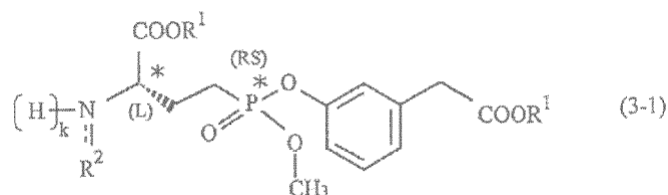
[Fórmula Química 15]



30 donde R¹, de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi; R² se selecciona de benciloxycarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido; k representa 0 o 1, donde cuando R² es benciloxycarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un enlace sencillo, y cuando R² es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un doble enlace; y * es como se ha definido anteriormente.

40 10. Una mezcla diastereomérica de un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Rp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico, estando representada la mezcla diastereomérica por la Fórmula (3-1):

[Fórmula Química 16]

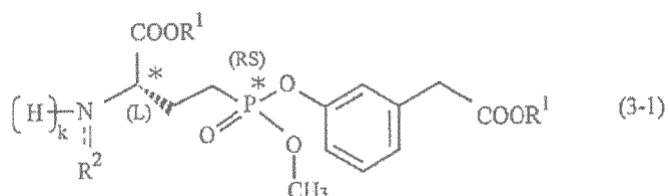


donde R¹, de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi;
 5 R² se selecciona de benciloxycarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido;
 k representa 0 o 1, donde cuando R² es benciloxycarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo
 de nitrógeno especificado y R² es un enlace sencillo, y cuando R² es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o
 difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un doble
 10 enlace; y los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos.

11. Un método para resolver ópticamente una mezcla diastereomérica de un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Rp)-(3-
 carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-
 carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico, comprendiendo el método

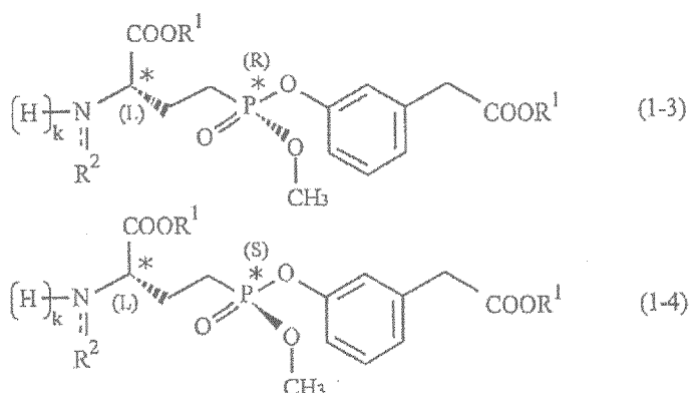
15 someter una mezcla diastereomérica, representada por la Fórmula (3-1), de un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Rp)-
 (3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico y un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-
 carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico a cristalización fraccionada, para dar uno de los isómeros ópticos
 representados por las Fórmulas (1-3) y (1-4), Fórmulas (3-1), (1-3), y (1-4) expresadas como sigue:

20 [Fórmula Química 17]



donde R¹, de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi;
 25 R² se selecciona de benciloxycarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido;
 k representa 0 o 1, donde cuando R² es benciloxycarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo
 de nitrógeno especificado y R² es un enlace sencillo, y cuando R² es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o
 difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un doble
 30 enlace; y los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos,

[Fórmula Química 18]



35 donde R¹, R², k, y * son como se han definido anteriormente.

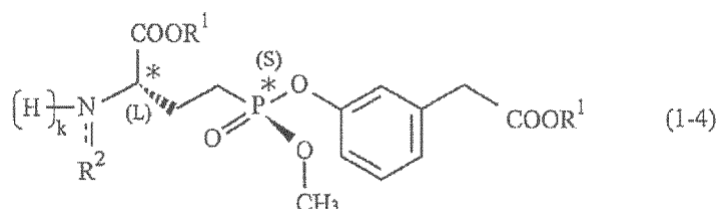
12. Un método para producir un hidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico,
 comprendiendo el método:

40 someter un derivado del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representada por la

Fórmula (1-4) a un tratamiento de desprotección para dar ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-4'); y

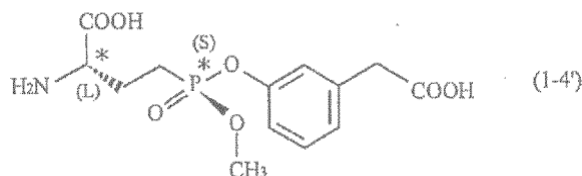
someter el ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico resultante a cristalización en agua o en una mezcla de disolventes de agua y un disolvente orgánico soluble en agua, para dar un hidrato del ácido L-2-amino-4-[(Sp)-(3-carboximetilfenoxi)(metoxi)fosforil]butanoico representado por la Fórmula (1-4'-1), Fórmulas (1-4), (1-4'), y (1-4'-1) expresadas como sigue:

[Fórmula Química 19]



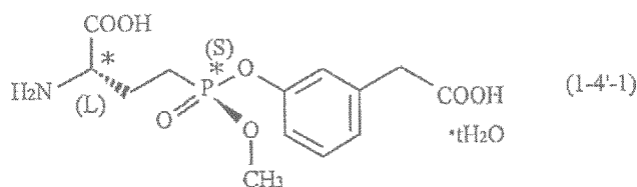
donde R¹, de forma idéntica o diferente en cada aparición, se selecciona de hidrógeno y un grupo protector de carboxi; R² se selecciona de benciloxycarbonilo, fenilmetilideno y difenilmetilideno, estando cada uno opcionalmente sustituido; k representa 0 o 1, donde cuando R² es benciloxycarbonilo opcionalmente sustituido, k es 1 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un enlace sencillo, y cuando R² es fenilmetilideno opcionalmente sustituido o difenilmetilideno opcionalmente sustituido, k es 0 y el enlace entre el átomo de nitrógeno especificado y R² es un doble enlace; y los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos,

[Fórmula Química 20]



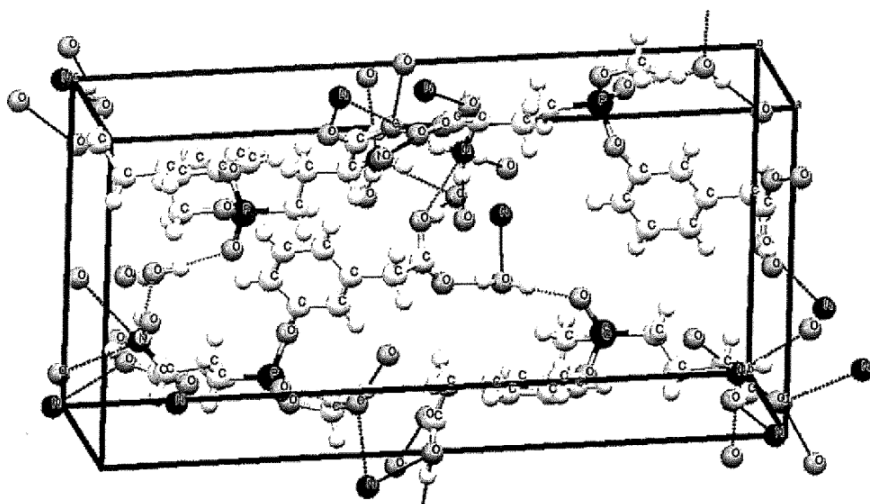
donde * es como se ha definido anteriormente,

[Fórmula Química 21]

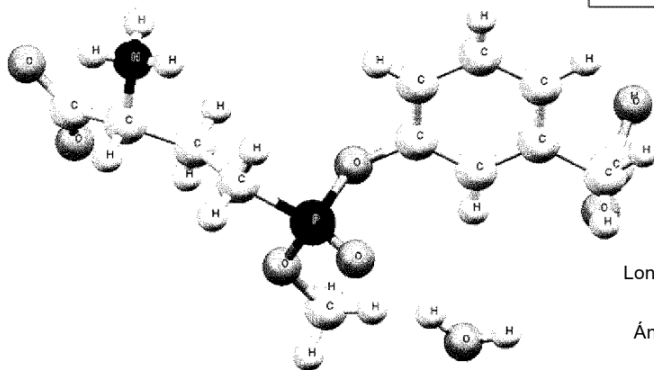
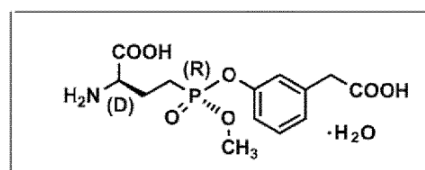


donde los átomos marcados con un asterisco (*) indican átomos asimétricos; y t representa un número mayor que 0.

[FIG. 1]

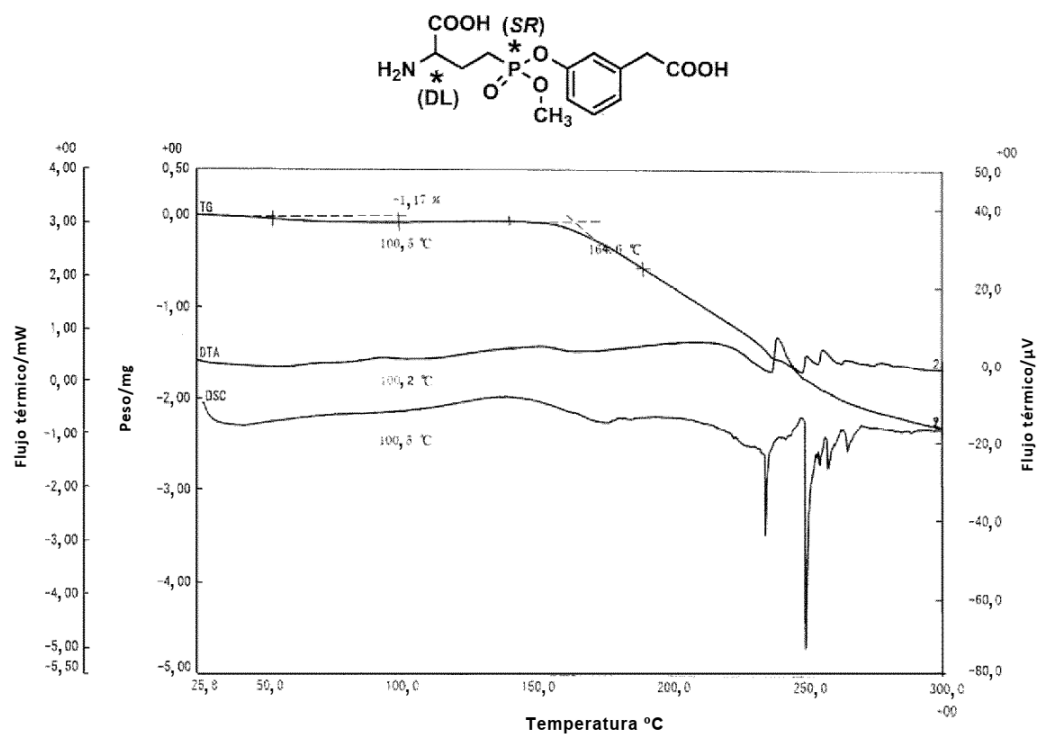


[FIG. 2]

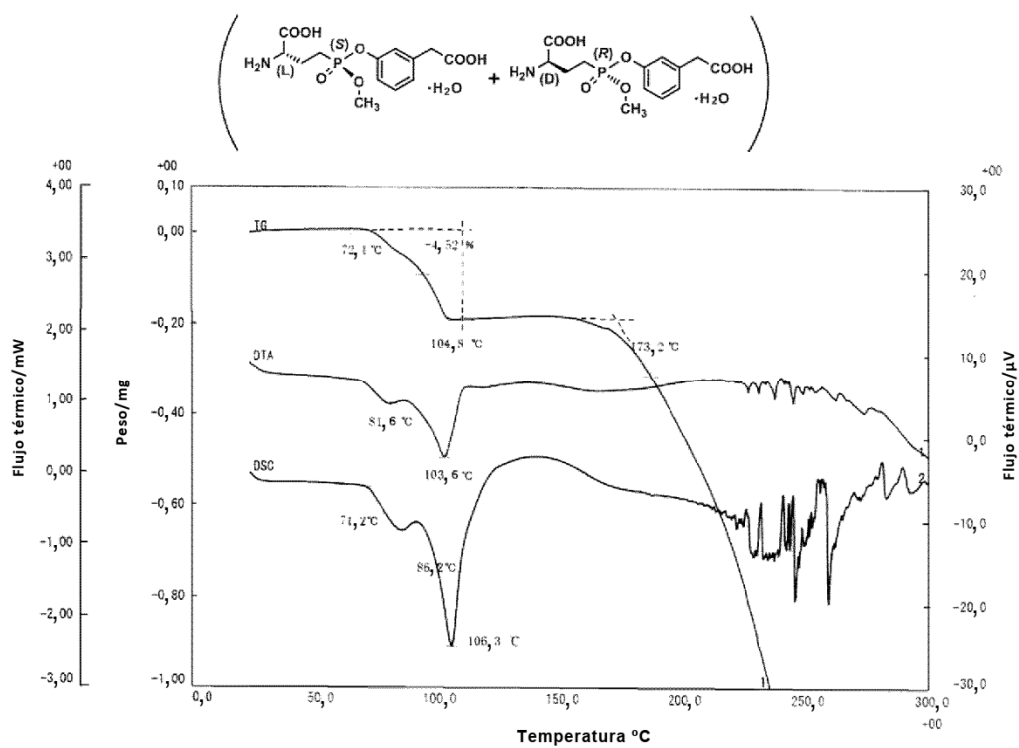


Fórmula: $C_{13}H_{20}NO_8P$
 Grupo espacial: $P2_12_12_1$
 Longitudes de celda: **a** 6,0202(16)
b 11.490(3) **c** 23,301(6)
 Ángulos de celda: **a** 90 **b** 90 **g** 90
Z: 4
 Factor-R (%) 3,34

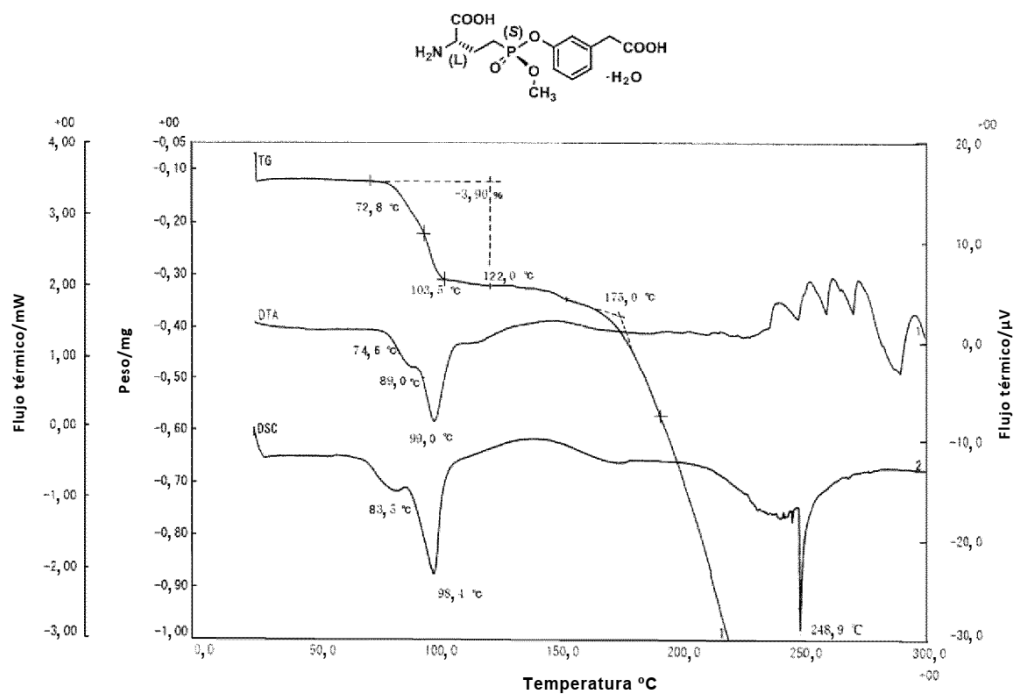
[FIG. 3]



[FIG. 4]



[FIG. 5]



[FIG. 6]

