



19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

11 Número de publicación: **2 279 403**

51 Int. Cl.:
C07H 5/02 (2006.01)
C07H 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Número de solicitud europea: **04743612 .6**
86 Fecha de presentación : **29.07.2004**
87 Número de publicación de la solicitud: **1648912**
87 Fecha de publicación de la solicitud: **26.04.2006**

54 Título: **Producción de 2-¹⁸F-2-desoxi-D-glucosa a través de síntesis en fase sólida.**

30 Prioridad: **31.07.2003 GB 0317920**

45 Fecha de publicación de la mención BOPI:
16.08.2007

45 Fecha de la publicación del folleto de la patente:
16.08.2007

73 Titular/es: **GE Healthcare Limited**
Amersham Place
Little Chalfont, Buckinghamshire HP7 9NA, GB

72 Inventor/es: **Brown, Lynda Jane;**
Brown, Richard C. D.;
Wadsworth, Harry John y
Jackson, Alexander

74 Agente: **Carpintero López, Francisco**

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

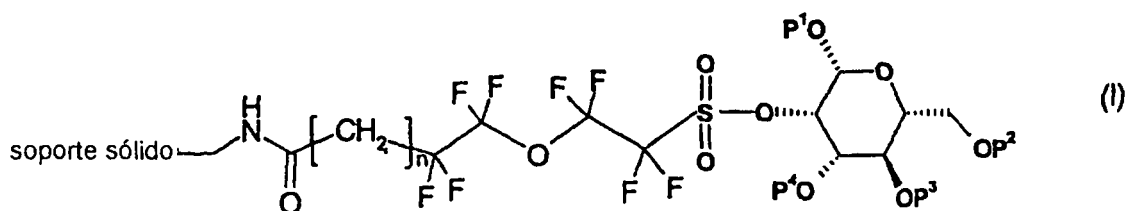
Producción de 2-¹⁸F-2-desoxi-D-glucosa a través de síntesis en fase sólida.

La presente invención se refiere a productos intermedios novedosos para la producción en fase sólida de 2-[¹⁸F]-fluoro-2-desoxi-D-glucosa (¹⁸F-FDG), un radiotrazador para la tomografía por emisión de positrones (PET), y a procedimientos de radiofluoración que usan estos productos intermedios. La invención comprende también kits radiofarmacéuticos que usan estos procedimientos y productos intermedios novedosos.

El radioisótopo favorito para la PET, ¹⁸F, tiene una semivida relativamente corta de 110 minutos. Por lo tanto, los trazadores marcados con ¹⁸F para la PET tienen que sintetizarse y purificarse tan rápido como sea posible, y de forma ideal en el plazo de una hora de uso clínico. Los procedimientos sintéticos habituales para la introducción del flúor 18 son relativamente lentos y requieren una purificación después de la reacción (por ejemplo por HPLC), lo que significa que es difícil obtener el trazador marcado con ¹⁸F para su uso clínico con un buen rendimiento radioquímico. También existe la necesidad de automatización para proteger al operario de la exposición a la radiación. Muchos procesos de radiofluoración son procedimientos complicados y es necesario simplificarlos para facilitar la automatización.

El documento WO 03/002157 describe procedimientos en fase sólida para la producción de trazadores marcados con ¹⁸F rápidamente y con una alta actividad específica evitando además etapas de purificación que llevan mucho tiempo, de manera que el trazador marcado con ¹⁸F es adecuado para su uso en la PET. Los procedimientos en fase sólida también se prestan a la automatización con ventajas de facilidad de producción y un rendimiento mayor. Se ha encontrado ahora una clase particular de producto intermedio para la producción de ¹⁸F-FDG que está dentro del alcance del documento WO 03/002157, pero que tiene ventajas que incluyen que pueden sintetizarse con un buen rendimiento y que da de forma sorprendente buenos rendimientos en la reacción de radiofluoración.

De este modo según un primer aspecto de la invención, se proporciona un compuesto de fórmula (I)

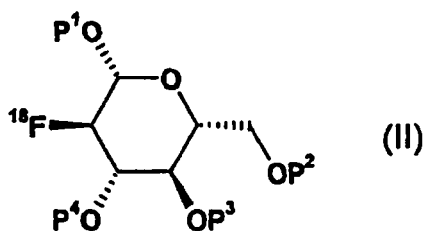


en el que P¹, P², P³, y P⁴ son cada uno de ellos de forma independiente hidrógeno en la que P¹, P², P³ y P⁴ son cada uno de ellos de forma independiente hidrógeno o un grupo protector; y n es un número entero de desde 2 hasta 20.

En los compuestos de fórmula (I), n es de forma adecuada de 4 a 12, preferiblemente de 6 a 10, y lo más preferiblemente es 10.

En los compuestos de fórmula (I), los grupos protectores adecuados, P¹, P², P³, y P⁴ pueden encontrarse, por ejemplo, en Protecting Groups in Organic Synthesis, Theodora W. Greene y Peter G. M. Wuts, publicado por John Wiley & Sons Inc., P¹ es preferiblemente alquilo C₁₋₄, tal como metilo. P⁴ es preferiblemente alcóximetilo C₁₋₄, tal como etóximetilo. P² y P³ junto con los oxígenos a los que están unidos, forman de forma adecuada un 1,3-dioxolano, tal como un 2-fenil-1,3-dioxolano (un grupo protector de bencilideno).

La presente invención proporciona, en un aspecto adicional, un procedimiento para la producción de 2-¹⁸F-fluoro-2-desoxi-D-glucosa (¹⁸F-FDG) que comprende el tratamiento de un precursor unido a un soporte sólido de fórmula (I) según se ha definido anteriormente, con ¹⁸F⁻ para producir el trazador marcado de fórmula (II)



en la que P¹, P², P³, y P⁴ son cada uno de ellos de forma independiente hidrógeno o un grupo protector; seguido de manera opcional por

ES 2 279 403 T3

(i) eliminar el $^{18}\text{F}^-$ en exceso, por ejemplo mediante cromatografía de intercambio iónico; y/o

(ii) eliminar los grupos protectores; y/o

5 (iii) eliminar el disolvente orgánico; y/o

(iv) formular el compuesto resultante de fórmula (II) como una disolución acuosa.

10 Como el trazador marcado con ^{18}F de fórmula (II) se elimina de la fase sólida en disolución, todo el precursor que no ha reaccionado permanece unido a la resina y puede separarse mediante una filtración simple, obviando de este modo la necesidad de una purificación complicada, por ejemplo mediante HPLC. El trazador marcado con ^{18}F de fórmula (II) puede lavarse eliminando el F^- en exceso, por ejemplo mediante cromatografía de intercambio iónico y/o eliminando cualquier cantidad de disolvente orgánico. La ^{18}F -FDG resultante puede entonces prepararse adicionalmente como una formulación acuosa para su uso clínico.

15 En los compuestos de fórmula (I) el “soporte sólido” puede ser cualquier soporte en fase sólida adecuado que sea insoluble en cualesquiera de los disolventes que van a usarse en el procedimiento pero al que puede unirse covalentemente al conector. Los ejemplos de soporte sólido adecuados incluyen polímeros tales como poliestireno (que puede injertarse en bloque, por ejemplo con polietilenglicol), poliacrilamida, o polipropileno o vidrio o silicona recubiertos con tal polímero. El soporte sólido puede estar en forma de pequeñas partículas diferenciadas tales como cuentas o agujas, o como un recubrimiento sobre la superficie interna de un cartucho o sobre un vaso microfabricado.

20 El tratamiento del compuesto de fórmula (I) con $^{18}\text{F}^-$ puede efectuarse mediante tratamiento con cualquier fuente de $^{18}\text{F}^-$, adecuada tal como Na^{18}F , K^{18}F , Cs^{18}F , ^{18}F -fluoruro de tetraalquilamonio, o ^{18}F -fluoruro de tetraalquilfosfonio. Para aumentar la reactividad del fluoruro, puede añadirse un catalizador de transferencia de fase tal como un éter corona o criptando, por ejemplo, 4,7,13,16,21,24-hexaoxa-1,10-diazabicyclo[8,8,8]-hexacosano y la reacción se realiza en un disolvente aprótico. Estas condiciones dan iones fluoruro reactivos. El tratamiento con ^{18}F se efectúa de forma adecuada en presencia de un disolvente orgánico adecuado tal como acetonitrilo, dimetilformamida, dimetilsulfóxido, tetrahidrofurano, dioxano, 1,2-dimetoxietano, sulfolano, N-metilpirrolidinona, a una temperatura no extrema, por ejemplo, de 15°C a 180°C , preferiblemente a una temperatura elevada. A la finalización de la reacción, el trazador marcado con ^{18}F de fórmula (II) disuelto en el disolvente se separa de forma conveniente de la fase sólida por filtración.

30 Cualquier ^{18}F en exceso puede eliminarse de la disolución de ^{18}F -FDG por cualquier medio adecuado, por ejemplo por cromatografía de intercambio iónico o absorbentes de fase sólida. Las resinas de intercambio iónico adecuadas incluyen BIO-RAD AG 1-X8 o Waters QMA y los absorbentes de fase sólida adecuados incluyen alúmina. El $^{18}\text{F}^-$ en exceso puede eliminarse usando tales fases sólidas a temperatura ambiente en disolventes apróticos.

40 La eliminación de cualquier grupo protector del compuesto de fórmula (II) puede efectuarse mediante procedimientos habituales. Las metodologías de protección y desprotección adecuadas pueden encontrarse, por ejemplo, en Protecting Groups in Organic Synthesis, Theodora W. Greene y Peter G. M. Wuts (véase anteriormente). En una realización preferida de la invención, los grupos hidroxilo de azúcar se protegen como ésteres, de forma adecuada ésteres alcánicos C_{1-6} , preferiblemente como ésteres de acetato, o como éteres, preferiblemente alcoxi C_{1-6} metil éteres, o acetales. Los grupos protectores de éster, acetal o éter pueden eliminarse de forma conveniente mediante hidrólisis, por ejemplo en presencia de un ácido o una base. Tal desprotección puede efectuarse usando un catalizador ácido o básico de soporte sólido que hace que ya no sea necesaria la neutralización después de la desprotección.

50 Cualquier disolvente orgánico puede eliminarse mediante cualquier procedimiento habitual tal como mediante evaporación a temperatura elevada a vacío o mediante el paso de una corriente de gas inerte tal como nitrógeno o argón por encima de la disolución.

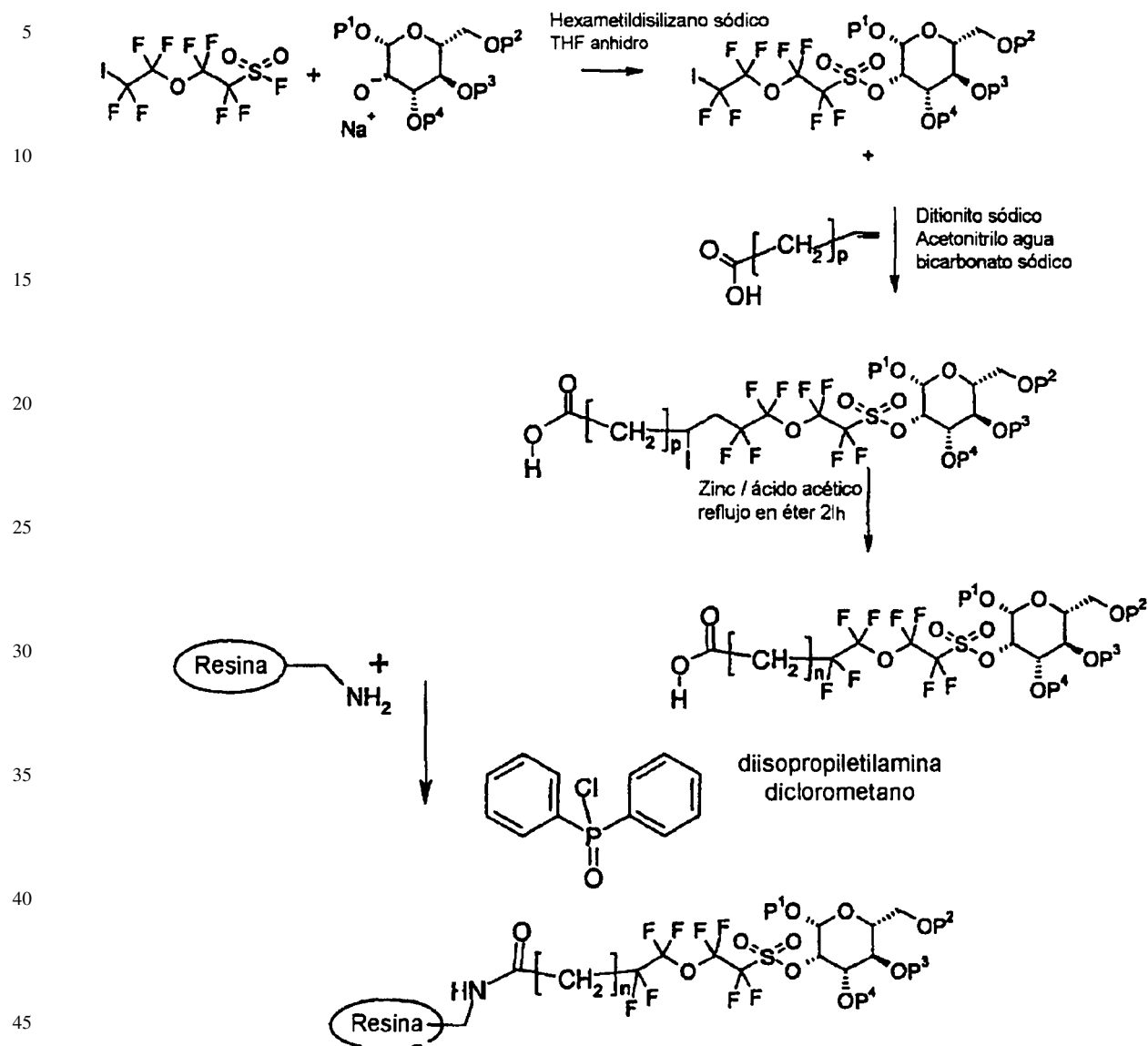
Antes del uso de ^{18}F -FDG, puede ser apropiado formularla, por ejemplo como una disolución acuosa mediante la disolución del trazador marcado con ^{18}F en una solución salina isotónica estéril que puede contener hasta un 10% de un disolvente orgánico adecuado tal como etanol, o una disolución tamponada adecuada tal como tampón fosfato. Pueden añadirse otros aditivos tales como ácido ascórbico para reducir la radiolisis.

55 Los compuestos de fórmula (I) pueden prepararse mediante el procedimiento mostrado en el esquema 1, en el que n, P^1 , P^2 , P^3 y P^4 son como tal se definieron para el compuesto de fórmula (I) y p es n-2 en el que n es tal como se definió para el compuesto de fórmula (I).

60

65

Esquema 1



50 Tal como se ha descrito anteriormente, las ventajas de tales procedimientos en fase sólida para la preparación de trazadores marcados con ¹⁸F incluyen la velocidad relativa del procedimiento, los procedimientos de purificación simplificados, y la facilidad de automatización, todos los cuales significan que los procedimientos son adecuados para la preparación de trazadores marcados con ¹⁸F para su uso en la PET. En consecuencia, la presente invención proporciona el uso de un procedimiento para la fabricación de ¹⁸F-FDG para su uso en la PET.

55 De forma conveniente, el precursor unido al soporte sólido de fórmula (I) podría proporcionarse como parte de un kit para un radiofármaco. El kit puede contener un cartucho que se puede encajar en un sintetizador automatizado adaptado de una forma adecuada. El cartucho puede contener, aparte del precursor unido al soporte sólido, una columna para eliminar el ión fluoruro no deseado, y un vaso apropiado conectado de manera que permita que se evapore la mezcla de reacción y permita que se formule el producto según se requiera. Los reactivos y los disolventes y otros consumibles requeridos durante la síntesis pueden incluirse también junto con un disco compacto que tiene el programa informático que permite que se haga funcionar el sintetizador de tal forma que cumpla los requerimientos para el cliente de concentración radiactiva, volúmenes, tiempo de administración, etc.

65 Convenientemente, todos los componentes del kit son desechables para minimizar las posibilidades de contaminación entre ensayos y deben tener una esterilidad y una calidad garantizada.

La invención proporciona además un kit radiofarmacéutico para la preparación de ^{18}F -FDG para su uso en PET que comprende:

- (i) un matraz que contiene un compuesto de fórmula (I); y
- (ii) medios para eluir el matraz con una fuente de ^{18}F ;
- (iii) un cartucho de intercambio iónico para eliminar el ^{18}F en exceso; y de forma opcional
- (iv) un cartucho para la desprotección en fase sólida del producto resultante de fórmula (II).

La invención proporciona además un cartucho para un kit radiofarmacéutico para la preparación de una ^{18}F -FDG para su uso en PET que comprende:

- (i) un vaso que contiene un compuesto de fórmula (I); y
- (ii) medios para eluir el vaso con una fuente de $^{18}\text{F}^-$.

En un aspecto adicional de la invención, se proporciona un procedimiento para obtener una imagen por PET de diagnóstico que comprende la etapa de usar un kit radiofarmacéutico o un cartucho para un kit radiofarmacéutico según se ha descrito anteriormente.

La invención se ilustrará ahora por medio de los siguientes ejemplos. En todos los ejemplos se usan las siguientes abreviaturas:

DMF: N,N-dimetilformamida

p/v: peso/volumen

h: hora(s)

l: litro(s)

CCF: cromatografía en capa fina

THF: tetrahidrofurano

eq.: equivalentes

DCM: diclorometano

EtOAc: acetato de etilo

Et_2O : dietil éter

min(s): minuto(s)

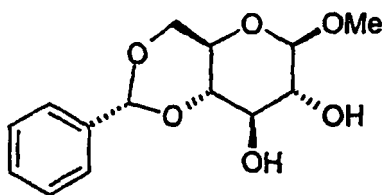
Ejemplos

Producto intermedio 1

Metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(5-yodooctafluoro-3-oxapentanosulfonato)- β -D-manopiranosido

Producto intermedio 1(i)

Síntesis de metil-4,6-O-benciliden- β -D-glucopiranosido



ES 2 279 403 T3

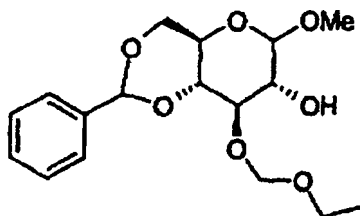
Todos los materiales utilizados, a menos que se especifique, se suministraron por la compañía Aldrich Chemical. Usando una modificación del procedimiento según se ha descrito: Tetrahedron, 1992, 48(47), 10249-10264. Se agitó metil- β -D-glucopiranosido (Biosynth International M-3592; 10,2 g, 50 mmol), dimetilacetal de benzaldehído (30 ml, 200 mmoles) y ácido 10-canforsulfónico (116 mg, 0,5 mmoles) en acetonitrilo anhidro (150 ml) a temperatura ambiente durante 4 h. Se comprobó la reacción mediante CCF para confirmar una conversión completa en el producto (desarrollado en hexano:acetato de etilo, 1:2, visualizado mediante pulverización con molibdato cérico amónico y calentamiento. Entonces se trató la reacción con trietilamina (1 ml) para neutralizar el ácido. Se filtró la disolución y se lavó el sólido con acetonitrilo (20 ml). La disolución madre se concentró hasta aproximadamente 60 ml, y se filtró de nuevo, y se lavó el filtrado con acetonitrilo (10 ml). El sólido combinado se secó a vacío, para dar 12,9 g (91%) de metil-4,6-O-benciliden- β -D-glucopiranosido.

$^1\text{H-RMN}$ (CD_3) $_2\text{SO}$ (300 MHz) TMS ref. δ 3,09 (1H, q); 3,42 (7H, m); 3,69 (1H, t,); 4,18 (1H, t,t); 5,35 (2H, d,d); 5,57 (1H, s,); 7,37 (3H, m); 7,45 (2H, m).

$^{13}\text{C-RMN}$ (CD_3) $_2\text{SO}$ (300 MHz) TMS ref. δ : 56,4, 65,78, 67,97, 72,81, 74,27, 80,63, 100,67, 104,53, 126,35, 128,03, 128,85, 137,80

Producto intermedio 1 (ii)

Metil-4,6-O-bencilideno-3-etoximetil- β -D-glucopiranosido



Se puso metil-4,6-O-benciliden- β -D-glucopiranosido seco (50 g, 175 mmoles) y tetrahidrofurano seco (3,5 l) (calidad para cromatografía de Aldrich) en un matraz de 5 l de fondo redondo provisto con un agitador superior y mantenido bajo una atmósfera de nitrógeno, y se agitó la mezcla a temperatura ambiente hasta que se disolvió el azúcar. Se añadió entonces hidruro sódico (16,5 g de una suspensión en aceite al 60%, 0,41 moles, 2,36 eq.) en pequeñas porciones con agitación, mientras que se producía un fuerte desprendimiento de hidrógeno durante un periodo de 15 min. Cuando se añade el hidruro sódico al metil-4,6-O-benciliden- β -D-glucopiranosido, la efervescencia es fuerte. Por lo tanto debe añadirse en pequeñas porciones para garantizar que la efervescencia no supera la capacidad del matraz. Sólo se observó un poco de exotermia (aproximadamente 3°C). En este punto, la reacción se volvió bastante viscosa. Se disolvió cloruro de etoximetilo (20 g, 19,3 ml, 0,2127 moles, 1,21 eq.) en THF seco (100 ml) y se añadió a través de un embudo de goteo a la mezcla de reacción durante un periodo de 15 min. y la agitación prosiguió durante 20 h a temperatura ambiente. La reacción se controló entonces mediante CCF con acetato de etilo; visualizado mediante pulverización con molibdato cérico amónico, apéndice (a). La CCF dio 4 manchas.

azúcar 2,3-dialquilada RF 0,78

producto 2-alkilado RF 0,52

producto 3-alkilado RF 0,26

Material de partida RF 0,04

La cantidad de material de partida se ha reducido a casi nada después de 20 h y se aplicó un tratamiento final a la reacción. La reacción se extinguió con cuidado mediante la adición gota a gota de agua (10 ml) para destruir cualquier cantidad de hidruro sódico en exceso y la disolución resultante se concentró a vacío (hasta 250 ml) y se repartió entre hidrogenocarbonato sódico saturado (500 ml) y acetato de etilo (1 l). Se separó la fase superior de acetato de etilo y se secó sobre sulfato sódico. Se extrajo la fase acuosa con 2 x 500 ml adicionales de acetato de etilo y las disoluciones combinadas de acetato de etilo se concentraron a vacío para dar un aceite amarillo (95 g). El producto se dividió en dos y se cromatografió en dos porciones en sílice de resolución rápida (gel de sílice BDH para cromatografía de resolución rápida, producto 153325 d10-33 μm , d90-70 μm) (dimensiones del gel de sílice 75 mm x 300 mm, columna de 75 mm de diámetro de 400 mm) en un gradiente de éter de petróleo:acetato de etilo 40-60. El producto en bruto se disolvió en éter de petróleo:acetato de etilo 40-60 2:1 para cargarlo en la columna de resolución rápida. Si la reacción es casi completa, todo el material en bruto se disuelve, puesto que sólo el metil-4,6-O-benciliden- β -D-glucopiranosido de partida es relativamente insoluble en este disolvente. La columna se eluyó secuencialmente con 2,5 l de éter de petróleo:acetato de etilo 40-60 2:1; 2 l de éter de petróleo:acetato de etilo 40-60 1,5:1 y 2,5 l de éter de petróleo:acetato de etilo 40-60 1:1. Se recogieron fracciones de 40 ml, se controlaron por CCF con éter de petróleo:acetato de etilo 40-60 1:1) y se visualizó mediante pulverización con molibdato cérico amónico, apéndice (a). La CCF indicó 4 productos principales. Los cuatro productos se concentraron a vacío para dar:

ES 2 279 403 T3

El compuesto que corre más rápido: Fracciones 24-33. Aceite mineral

Producto 3a: Fracciones 40-62. Metil-4,6-O-benciliden-2,3-dietoximetil- β -D-glucopiranosido. PM = 398, peso 7,689 g, 0,0193 moles, rendimiento del 11,0%

Producto 3b: Fracciones 73-91. Metil-4,6-O-benciliden-2-etoximetil- β -D-glucopiranosido. PM = 340, peso 8,73 g, 0,0256 moles, rendimiento del 14,6%

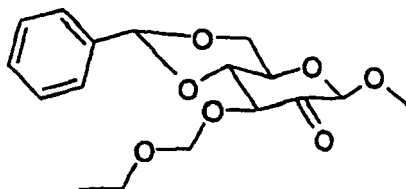
Producto 3: Fracciones 95-150. Metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil- β -D-glucopiranosido. PM = 340, peso 32,603 g, 0,0958 moles, rendimiento del 54,8%

^1H -RMN CDCl_3 (300 MHz) δ 1,25 (3H, s), 3,34 (1H, t), 3,43 (1H, m), 3,58 (5H, m), 3,75 (4H, M), 3,92 (1H, m), 4,33 (2H, d,d), 4,73 (1H, d), 4,80 (1H, q), 5,53 (1H, q), 7,35 (3H, m), 7,48 (2H, m).

Representando el 80% de recuperación de producto.

Producto intermedio -1 (iii)

Metil-4,6-O-benciliden-3-O-etoximetil-2-ceto- β -D-glucopiranosido



Se trató metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil- β -D-glucopiranosido (preparado según se describe en el producto intermedio 1 (ii) (14 g, 41,2 mmoles) con metilsulfóxido (168 ml) y anhídrido acético (84,5 ml) a temperatura ambiente durante 24 h. La cromatografía en capa fina (hexanos 40-60)/acetato de etilo 1:1 o dietil éter al 100%) revelado con molibdato cérico amónico y calentamiento (véase el procedimiento anterior) indicó la conversión completa en la cetona. La disolución se diluyó entonces con acetato de etilo (1 l) y se lavó con fuerte agitación en un embudo de separación con disolución acuosa saturada de carbonato potásico (600 ml) para hidrolizar el anhídrido acético en exceso. Precaución: Debe usarse disolución de carbonato de potasio en exceso porque el anhídrido acético que no ha reaccionado puede hidrolizarse en el agua para dar ácido acético, que desprotege el azúcar. Además, se liberan grandes cantidades básicas insuficientes de dióxido de carbono produciendo la formación de espuma. Se separó la fase de acetato de etilo y se lavó con agua (3 x 500 ml) que se retroextrajo secuencialmente con acetato de etilo (3 x 500 ml). Las fracciones de acetato de etilo se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron a vacío para dar un metil-4,6-O-bencilidín-3-etoximetil-2-ceto- β -D-glucopiranosido en bruto, sólido, semicristalino. (aproximadamente 20 g >100% que contiene acetato de etilo). Se cristalizó una muestra en dietil éter/éter de petróleo. A partir de la RMN, el compuesto es una mezcla de la cetona y agua en el disolvente, en equilibrio con el diol.

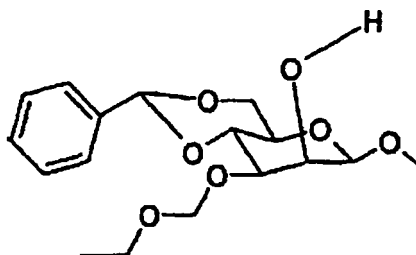
^1H -RMN CDCl_3 (300 MHz) δ ; 1,09 y 1,16 (3H, t); 1,65 (1H, s); 2,61 (1H, s); 3,45 (1H, m); 4,5 (1H, S); 4,8 (1H, d); 4,87 (1H, d); 4,95 (1H, d); 5,38 (1H, s); 5,54 (1H, s); 7,4 (3H, m); 7,49 (2H, m);

^{13}C -RMN CDCl_3 (75 MHz) δ ; 14,79, 40,97, 57,19, 57,84, 63,77, 64,37, 64,59, 66,57, 68,55, 78,54, 81,84, 82,94, 92,55, 92,89, 94,9, 101,25, 101,62, 102,93, 126,19, 128,25, 129,11, 136,76, 1327,17.

El material en bruto contiene metil-2-acetoxi-4,6-O-bencilidín-3-etoximetil- β -D-glucopiranosido procedente de la acetilación del material de partida en lugar de la oxidación. Este material en bruto se usó directamente en la siguiente etapa.

Producto intermedio 1 (iv)

Preparación de 4,6-O-benciliden-3-etoximetil- β -D-manopiranosido de metilo



Se trató metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-ceto- β -D-glucopiranosido (aproximadamente 20 g de material en bruto de la etapa previa, 0,0412 moles suponiendo un 100% de rendimiento) en metanol (200 ml) con borohidruro sódico (1,686 g, 0,444 mmoles) a -20°C con agitación continua y se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante 48 h. La reacción se controló entonces mediante CCF (dietil éter al 100%), se visualizó con molibdato cérico amónico y calentamiento, apéndice (a). La cetona tiene casi el mismo R_f que el alcohol ya que existe como un diol. La reacción se concentró entonces a vacío hasta dar una goma y el producto se repartió entre acetato de etilo (250 ml) y disolución acuosa diluida de carbonato potásico (50 ml). Se separó la fase de acetato de etilo y se secó sobre sulfato sódico. Se retroextrajo la fase acuosa con acetato de etilo (2 x 100 ml) se secó sobre sulfato sódico y los extractos combinados de acetato de etilo se evaporaron para dar un sólido blanquecino. Este material se cromatografió en sílice de resolución rápida (gel de sílice BDH para cromatografía de resolución rápida, producto 153325 d10- 33 μm , d90- 70 μm) (dimensiones del gel de sílice 75 mm x 200 mm, columna de 75 mm de diámetro de 400 mm) en un gradiente de éter de petróleo:acetato de etilo 40-60. La columna se eluyó secuencialmente con 2 l de éter de petróleo:acetato de etilo 40-60 1:1; 2 l de éter de petróleo:acetato de etilo 40-60 1:1,5 y 2,5 l de acetato de etilo. Se recogieron fracciones de 40 ml, se controlaron mediante CCF (éter de petróleo:acetato de etilo 40-60 1:1) y se visualizó mediante pulverización con molibdato cérico amónico (). La CCF indicó 3 productos principales. Los tres productos se concentraron a vacío para dar:

Producto 1: Fracciones 10-30. Metil-2-acetoxi-4,6-O-benciliden-3-etoximetil- β -D-glucopiranosido (1,54 g, 0,0040 moles), 9,8%

Producto 2: Fracciones 35-48. Metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil- β -D-glucopiranosido (2,743 g, 0,00806 moles), 19,58%. Producto muy en bruto no cristalizó. Probablemente sólo un 50% de compuesto.

Producto 3: Fracciones 50-73. Metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil- β -D-manopiranosido (10,62 g, 0,0312 moles), 76% después de dos etapas. La cristalización del éter dio 7,84 g de material muy puro y 2,78 g de sólidos con la evaporación de las aguas madre, lo que fue adecuado para su uso en la siguiente etapa.

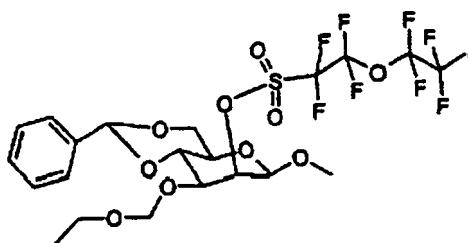
Juntos representan un 105% de recuperación de producto que reflejan probablemente la contaminación de la fracción 2 con dimetilsulfóxido.

^1H -RMN CDCl_3 (300 MHz) δ : 1,19 (3H, t), 1,60 (1H, s), 2,54 (1H, s); 3,39 (1H, m); 3,59 (3H, s); 3,64 (2H, m), 3,77 (2H, m); 4,09 (1H, t), 4,37 (1H, d, d); 4,51 (1H, s); 4,78 (1H, d), 4,85, (1H, d); 5,54 (1H, s); 7,36 (3H, m), 7,47 (2H, m).

^{13}C -RMN CDCl_3 (75 MHz) δ : 14,8, 57,10, 63,41, 66,81, 68,40, 70,07, 74,57, 77,42, 94,51, 101,51, 126,29, 128,54, 128,78, 137,21.

Producto intermedio 1 (v)

Metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(5-yodooctafluoro-3-oxapentanosulfonato)- β -D-manopiranosido



Se disolvió metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil- β -D-manopiranosido (producto intermedio 1 (iv)) (1 g, 2,93 mmoles) en THF seco (30 ml) bajo nitrógeno seco y se trató con hexametildisilazano sódico 1 molar en THF (4,43 ml, 4,43 mmoles, 1,5 eq.) y se agitó durante 5 minutos, y después se trató con fluoruro de 5-yodooctafluoro-3-oxapentafluorosulfonilo (Appollo, 1,89 g, 4,43 mmoles). La reacción se agitó a temperatura ambiente durante 1 h. La reacción se controló con CCF en sílice desarrollado en acetato de etilo y visualizado mediante pulverización con molibdato cérico amónico y calentamiento. Se concentró la reacción a vacío hasta un volumen bajo (para eliminar el fluoruro de 5-yodooctafluoro-3-oxapentafluorosulfonilo y el tetrahidrofurano en exceso), se diluyó con acetato de etilo (30 ml) y se lavó con disolución acuosa saturada de hidrogenocarbonato sódico. Se separó la fase orgánica y se secó sobre sulfato sódico y se concentró a vacío para dar una goma. La fase acuosa se retroextrajo con acetato de etilo (2 x 30 ml), se secaron los extractos sobre sulfato sódico y se concentraron los extractos combinados de acetato de etilo a vacío para dar metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(5-yodooctafluoro-3-oxapentanosulfonato)- β -D-manopiranosido (2,712 g).

^1H -RMN CDCl_3 (300 MHz) TMS ref. δ 7,50-7,30 (5H, m, Ph), 5,57 (1H, s, PhCHO_2), 5,13 (1H, d, $J = 2,9$ Hz, H^2), 4,81 (2H, AB, $J = 7,4$, 21,3 Hz, OCH_2O), 4,57 (1H, s, H^1), 4,34 (1H, dd, $J = 5,1$, 10,3 Hz, H^6), 4,12 (1H, dd, J

ES 2 279 403 T3

= 2,9, 9,6 Hz, H^3), 3,94-3,82 (2H, m, H^4 , $H^{6'}$), 3,74-3,55 (2H, m, CH_2), 3,56 (3H, s, CH_3O), 3,44 (1H, ddd, $J = 4,4, 9,5, 10,3$ Hz, H^5), 1,13 (3H, t, $J = 6,6$ Hz, CH_3); ^{13}C -RMN $CDCl_3$ (75 MHz), TMS ref. δ : 137,13, 129,28, 128,37, 126,19, 101,92 ($PhCHO_2$), 99,16 (C^1), 94,07 (OCH_2O), 83,61 (C^2), 77,32 (C^4), 71,04 (C^3), 68,44 (C^6), 67,58 (C^5), 63,96 (CH_2O), 57,50 (CH_3O), 15,01 (CH_3);

^{19}F -RMN $CDCl_3$ (282 MHz) ref. C_6F_6 δ : 96,98, 79,97, 76,42, 48,24.

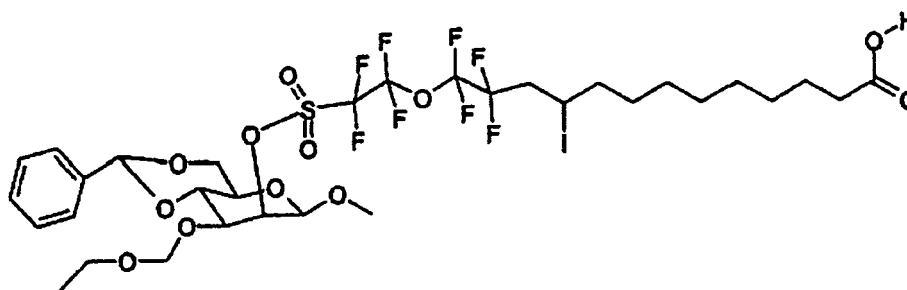
ν_{max} (película)/ cm^{-1} 2973w, 2941w, 1738m, 1413m, 1380m, 1337m, 1295m, 1209s, 1148s, 1094s, 1026s, 917m.

Ejemplo 1

Preparación de amida de resina de aminopoliestireno de metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(ácido 3-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)- β -D-manopiranosido

Ejemplo 1 (i)

Metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(ácido 3-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-10-yodo-hexadecanoico-16-sulfonato)- β -D-manopiranosido



Se disolvió metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(5-yodo-octafluoro-3-oxapentanosulfonato)- β -D-manopiranosido (producto intermedio 1 en bruto) (2,7 g, 2,96 mmoles teóricos) en acetonitrilo (40 ml), agua (20 ml), se enfrió a 0° en un baño con hielo, se agitó y se trató con hidrogenocarbonato sódico, (298 mg, 3,55 mmoles, 1,2 eq.) ditionito sódico (617 mg, 3,55 mmoles, 1,2 eq.) y ácido undecilénico (Aldrich, 544 mg, 2,96 mmoles, 1,0 eq.). La reacción agitada se dejó calentar hasta temperatura ambiente durante 1 h. La reacción se controló mediante CCF sobre gel de sílice desarrollado en acetato de etilo y se visualizó mediante pulverización con molibdato cérico amónico y calentamiento. La reacción se concentró a temperatura ambiente a alto vacío hasta 20 ml para eliminar el acetonitrilo, y se extrajo con acetato de etilo (30 ml). (La separación de las dos fases es muy lenta). Se separó la fase de acetato de etilo y se lavó con agua (30 ml). Los extractos acuosos se retroextrajeron secuencialmente con acetato de etilo (3 x 30 ml) y los extractos combinados de acetato de etilo se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron a alto vacío a temperatura ambiente hasta una goma para dar metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(ácido 3-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-10-yodo-hexadecanoico-16-sulfonato)- β -D-manopiranosido (3,1 g). El material en bruto se usó directamente en la siguiente etapa sin purificación adicional. El material se almacenó a -25°C durante toda la noche para garantizar que no se descompone. Una muestra del compuesto se purificó mediante cromatografía sobre sílice en un gradiente de acetato de etilo en petróleo para dar una muestra pura.

1H -RMN $CDCl_3$ (300 MHz) TMS ref. δ : 7,50-7,31 (5H, m, Ph), 5,58 (1H, s, $PhCHO_2$), 5,15 (1H, d, $J = 2,9$ Hz, H^2), 4,80 (2H, AB, $J = 7,4$ Hz, OCH_2O), 4,61 (1H, s, H^1), 4,40-4,25 (1 H, m, CHI , H^6), 4,17 (1H, dd, $J = 2,9, 10,3$ Hz, H^3), 3,95-3,85 (2H, m, H^4 , H^6), 3,75-3,60 (2H, m, CH_2), 3,58 (3H, s, CH_3O), 3,51-3,42 (1H, m, H^5), 3,00-2,65 (2H, m, CH_2), 2,35 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, CH_2), 1,90-1,30 (14H, m, CH_2), 1,15 (3H, t, $J = 6,6$ Hz, CH_3);

^{13}C -RMN $CDCl_3$ (75 MHz) δ : 179,52 (CO), 137,31, 129,51, 128,41, 126,35 (Ph), 102,09 ($PhCHO_2$), 99,37 (C^1), 94,15 (OCH_2O), 83,73 (C^2), 77,48 (C^4), 71,28 (C^3), 68,60 (C^6), 67,79 (C^5), 64,14 (CH_2O), 57,62 (CH_3O), 41,54, 40,58, 34,19, 29,74, 29,41, 29,38, 29,26, 28,71, 24,93 (CH_2), 21,36 (CHI), 15,12 (CH_3);

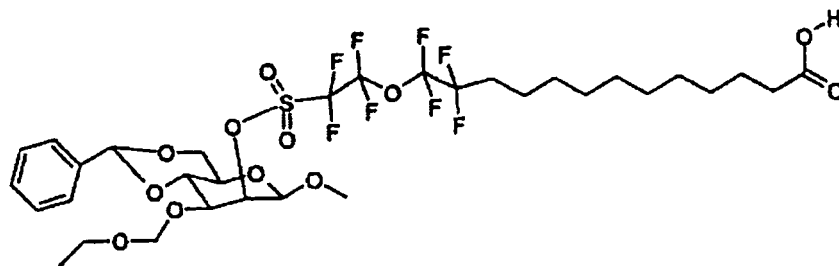
^{19}F -RMN $CDCl_3$ (282 MHz), ref. C_6F_6 δ : 79,78, 74,37, 47,92, y 43,70.

m/z (ES^-) 929,3 [M]-.

ν_{max} (película)/ cm^{-1} 2972w, 2931w, 2858w, 1709m, 1410m, 1192s, 1147s, 1093s, 1025s, 993s, 919s.

Ejemplo 1 (ii)

Metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(ácido 3-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)- β -D-manopiranosido



Se disolvió metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(ácido 3-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-10-yodo-hexadecanoico-16-sulfonato)- β -D-manopiranosido (preparado según se describe en el ejemplo 1(i)) (2,96 mmoles, 2,75 g) en dietil éter seco (40 ml) y ácido acético seco (20 ml) y se trató con polvo de zinc (1150 mg, 17,8 mmoles, 6 eq.) bajo una atmósfera de nitrógeno. La reacción se agitó a temperatura de reflujo en un baño de aceite a 70°C durante 2,5 h. Se midió la temperatura interna para que fuera de 45-50°C. La CCF de la reacción desarrollada en acetato de etilo y revelada con molibdato cérico amónico y calentamiento no mostró cambios en el RF de la mancha principal. La reacción se enfrió entonces hasta temperatura ambiente, y se decantó del polvo de zinc no reaccionado. Se lavó el polvo de zinc con éter y la disolución combinada de ácido acético y dietil éter se concentró a alto vacío en un evaporador rotatorio. El residuo gomoso de la evaporación se disolvió en acetato de etilo (50 ml) y se lavó con agua (50 ml). La fase acuosa se retroextrajo con acetato de etilo (2 x 25 ml) y los extractos orgánicos combinados se separaron, se secaron sobre sulfato sódico y se concentraron a vacío para dar el producto deseado como una goma, 2,4 g de producto en bruto que se usó directamente en la siguiente etapa.

Antes del almacenamiento, la goma se destiló azeotrópicamente con tolueno (3 x 30 ml) a alto vacío a temperatura ambiente para eliminar todas las trazas de ácido acético y agua. Se purificó una muestra del producto en bruto mediante cromatografía en columna de resolución rápida sobre gel de sílice (columna de 3 cm de diámetro, de 20 cm de profundidad de sílice, eluyendo con petróleo:acetato de etilo 2:1 hasta 1:1, teniendo el producto deseado una $R_f = 0,6$ en acetato de etilo puro) dando un aceite incoloro (1,05 g, 55% para dos etapas). El aceite se puso a alto vacío durante 24 horas para eliminar los disolventes traza.

^1H -RMN CDCl_3 (300 MHz) TMS ref. δ , 7,50-7,31 (5H, m, Ph), 5,58 (1H, s, PhCHO_2), 5,15 (1H, d, $J = 2,9$ Hz H^2), 4,80 (2H, AB, $J = 7,4$ Hz, OCH_2O), 4,61 (1H, s, H^1), 4,40-4,25 (1H, m, CH , H^6), 4,17 (1H, dd, $J = 2,9, 10,3$ Hz, H^3), 3,95-3,85 (2H, m, H^4 , H^6), 3,75-3,60 (2H, m, CH_2), 3,58 (3H, s, CH_3O), 3,51-3,42 (1H, m, H^5), 3,00-2,65 (2H, m, CH_2), 2,35 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, CH_2), 1,90-1,30 (14H, m, CH_2), 1,15 (3H, t, $J = 6,6$ Hz, CH_3)

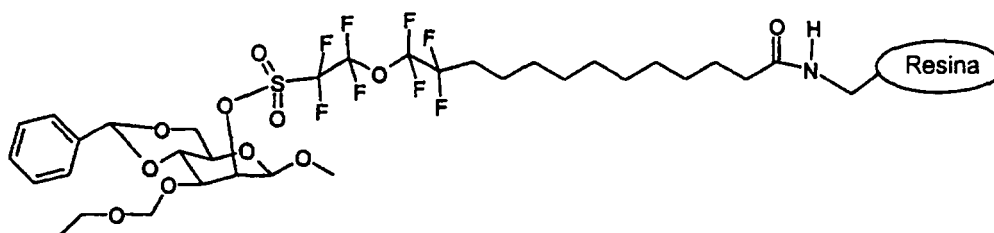
^{13}C -RMN CDCl_3 (75 MHz) δ : 179,64 (CO), 137,31, 129,39, 128,48, 126,34 (Ph), 102,08 (PhCHO_2), 99,38 (C^1), 94,14 (OCH_2O), 83,57 (C^2), 77,46 (C^4), 71,31 (C^3), 68,59 (C^6), 67,78 (C^5), 64,11 (CH_2O), 57,58 (CH_3O), 34,22, 30,89, 30,67, 30,45, 29,57, 29,45, 29,36, 29,30, 24,95, 20,56 (CH_2), 15,09 (CH_3);

^{19}F -RMN CDCl_3 , (282 MHz) ref. C_6F_6 δ 79,8, 74,2, 47,9, y 43,5. m/z (ES^-) 803,3 $[\text{M}]^-$.

ν_{max} (película)/ cm^{-1} 2929w, 2858w, 2858w, 1710m, 1411 m, 1147s, 1093s, 1025s, 994s, 918s.

Ejemplo 1 (iii)

Amida de resina de aminopoliestireno de metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(16-sulfonato del ácido 3-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico)- β -D-manopiranosido



ES 2 279 403 T3

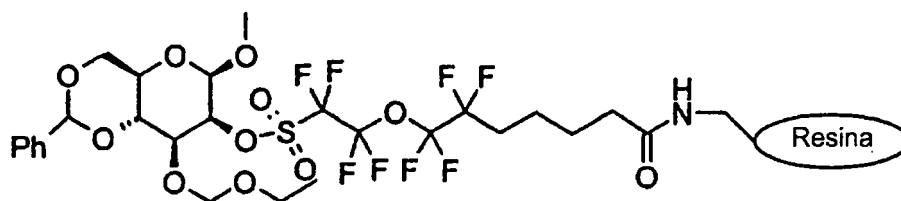
Se secó metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(ácido 3-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)- β -D-manopiranosido del ejemplo 1 (ii) en bruto destilando azeotrópicamente con tolueno (10 ml) tres veces (804 mg, 1 mmol) en diclorometano seco (7,5 ml) en un tubo de centrifuga de 20 ml de Coming, se trató con resina de aminopoliestireno (Nova biochem 01-64-0143 1,4 mmoles/g, lote A24595, 500 mg, 0,7 mmoles), diisopropiltilamina (260 mg, 2 mmoles) y cloruro de difenilfosforilo (236 mg, 1 mmol). Se agitó la reacción en una agitadora "Blood wheel" a temperatura ambiente durante 15 h. Entonces se recogió la resina por filtración y se lavó secuencialmente con diclorometano (100 ml) y metanol (100 ml) y éter (50 ml). La resina se secó a alto vacío para dar 973 mg de amida de resina de aminopoliestireno de metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(ácido 3-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)- β -D-manopiranosido.

La RMN en fase de gel se desarrolló preparando una suspensión de la resina en CDCl_3 y desarrollando como es normal.

^{19}F -RMN CDCl_3 CFCl_3 ref δ : 82,4, 88,5, 114,2, 118,58.

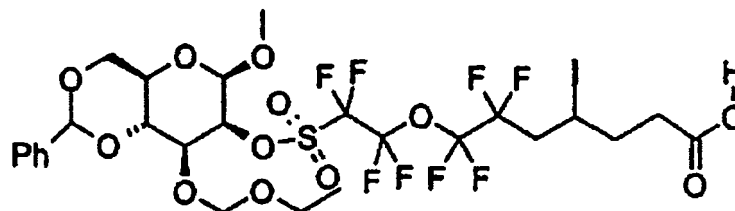
Ejemplo 2

Preparación de amida de resina de aminopoliestireno de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 8-oxa-6,6,7,7,9,9,10,10-octafluoro-decanoico-10-sulfonato)- β -D-manopiranosido



Ejemplo 2 (i)

Preparación de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 4-yodo-8-oxa-6,6,7,7,9,9,10,10-octafluoro-decanoico-10-sulfonato)- β -D-manopiranosido



A metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(5-yodooctafluoro-3-oxapentanosulfonato)- β -D-manopiranosido (producto intermedio 1) (400 mg, 0,54 mmol) y ácido 4-pentenoico (56 mg, 0,56 mmol) en CH_3CN : H_2O (4 ml: 2 ml), se añadió NaHCO_3 (59 mg, 0,70 mol) y $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (al 85%, 140 mg, 0,70 mmol) y se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 20 minutos. La reacción se concentró a vacío. La purificación mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice eluyendo con EtOAc :hexano (1:2) dio metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 4-yodo-8-oxa-6,6,7,7,9,9,10,10-octafluoro-decanoico-10-sulfonato)- β -D-manopiranosido como un aceite incoloro (305 mg, 67%).

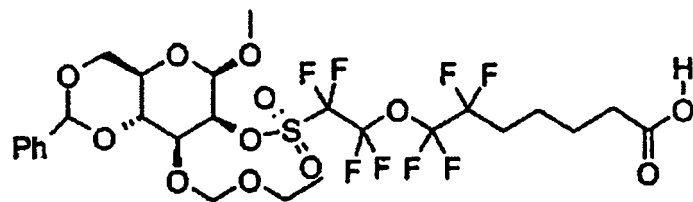
^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3) δ : 7,50-7,25 (5H, m, Ph), 5,52 (1H, s, PhCHO_2), 5,17 (1H, d, $J = 2,9$ Hz, H^2), 4,75 (2H, AB, $J = 7,4$ Hz, OCH_2O), 4,53 (1H, s, H^1), 4,34-4,24 (2H, m, H^6 , CHI), 4,09 (1H, dd, $J = 2,9$ Hz, H^3), 3,90-3,77 (2H, m, H^4 , H^6), 3,70-3,50 (2H, m, CH_2), 3,50 (3H, s, CH_3O), 3,45-3,32 (1H, m, H^5), 2,98-2,28 (4H, m, CH_2), 2,18-1,90 (2H, m, CH_2), 1,05 (3H, t, $J = 7,4$ Hz, CH_3);

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3) δ : 177,32, 137,12, 129,28, 128,36, 126,20 (Ph), 101,93 (PhCHO_2), 99,19 (C^1), 94,02 (OCH_2O), 83,66 (C^2), 77,28 (C^4), 71,10 (C^3), 68,43 (C^6), 67,61 (C^5), 64,01 (CH_2O), 57,54 (CH_3O), 41,37, 35,14, 34,21, 19,09 (CH_2), 14,98 (CH_3); ^{19}F -RMN (282 MHz, CDCl_3 , ref. C_6F_6) δ : 79,74, 72,97, 47,56, 43,89; m/z (ES^+) 740,9 [$\text{M} + \text{Na}$] $^+$, 1458,4 [$2\text{M} + \text{Na}$] $^+$.

ν_{max} (película)/ cm^{-1} 2975w, 2878w, 1714m, 1410m, 1192s, 1146s, 1093s, 1025s, 994m, 920s.

Ejemplo 2 (ii)

Metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 4-yodo-8-oxa-6,6,7,7,9,9,10,10-octafluoro-decanoico-10-sulfonato)- β -D-manopiranosido



A metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 4-yodo-8-oxa-6,6,7,7,9,9,10,10-octafluoro-decanoico-10-sulfonato)- β -D-manopiranosido (preparado según se describe en el ejemplo 2(i)) (300 mg, 0,36 mmol) en Et₂O (2 ml), se añadió zinc (99,998%, malla 100, 93 mg, 1,42 mmol) y ácido acético (1 ml) y la reacción se puso a reflujo, bajo argón, durante 3 h (temperatura del baño = 80°C). Se dejó enfriar la reacción hasta temperatura ambiente y se filtró a través de celita, lavando con Et₂O (50 ml). Se concentró el filtrado a vacío para eliminar todo el disolvente. La purificación mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con EtOAc:hexano (1:3), dio metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 8-oxa-6,6,7,7,9,9,10,10-octafluoro-decanoico-10-sulfonato)- β -D-manopiranosido como un aceite incoloro (70 mg, 27%).

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ : 7,50-7,31 (5H, m, Ph), 5,58 (1H, s, PhCHO₂), 5,15 (1H, d, J = 2,9 Hz, H²), 4,80 (2H, AB, J = 7,4 Hz, OCH₂O), 4,63 (1H, s, H¹), 4,36 (1H, q, J = 5,2 Hz, H⁶), 4,17 (1H, dd, J = 2,9, 10,3 Hz, H³), 3,95-3,86 (2H, m, H⁴, H⁶), 3,75-3,60 (2H, m, CH₂), 3,58 (3H, s, CH₃O), 3,52-3,43 (1H, m, H⁵), 2,42 (2H, t, J = 7,4 Hz, CH₂), 2,20-2,00 (2H, m, CH₂), 1,80-1,60 (4H, m, CH₂), 1,15 (3H, t, J = 7,4 Hz, CH₃);

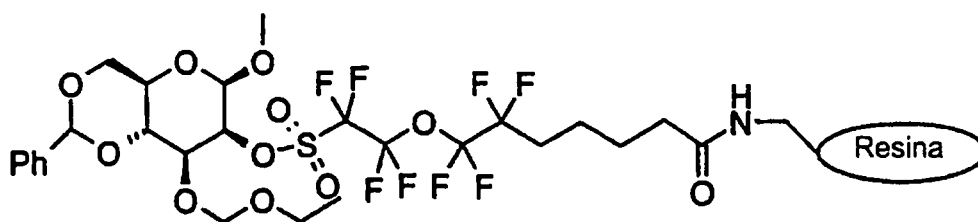
¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃) δ : 178,65 (CO), 137,11, 129,29, 128,37, 126,20 (Ph), 101,92 (PhCHO₂), 99,19 (C¹), 93,99 (OCH₂O), 83,50 (C²), 77,27 (C⁴), 71,08 (C³), 68,42 (C⁶), 67,60 (C⁵), 64,00 (CH₂O), 57,54 (CH₃O), 33,55, 30,29, 24,16, 20,07 (CH₂), 14,97 (CH₃); ¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃, ref. C₆F₆) δ : 79,72, 73,61, 47,91, 43,70;

m/z (ES⁻) 719,0 [M]⁻, 832,9 [M + TFA]⁻.

$\nu_{\max}$ (película)/cm⁻¹ 2932w, 1723m, 1410m, 1192s, 1149s, 1115, 1027s, 922s.

Ejemplo 2 (iii)

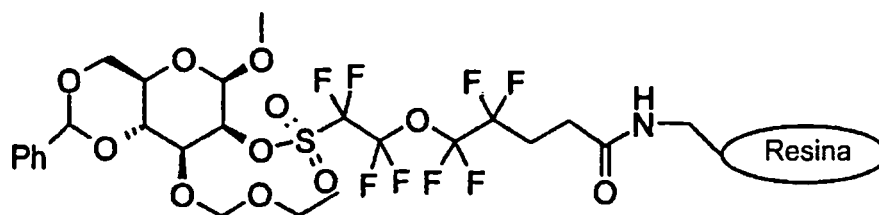
Amida de resina de aminopoliestireno de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 8-oxa-6,6,7,7,9,9,10,10-octafluoro-decanoico-10-sulfonato)- β -D-manopiranosido



A poliestireno aminometilado (NovaBiochem, malla 50-100, 01-64-0383, lote A24063, carga: 1,5 mmol/g, 45 mg, 0,067 mmol) y metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 8-oxa-6,6,7,7,9,9,10,10-octafluoro-decanoico-10-sulfonato)- β -D-manopiranosido (preparado según se describe en el ejemplo 2(ii)) (58 mg, 0,081 mmol) en CH₂Cl₂ seco (1 ml) se añadió N,N-diisopropiletilamina (21 mg, 28 μ l, 0,162 mmol), seguido por cloruro de difenilfosforilo (19 mg, 16 μ l, 0,081 mmol). Se agitó la reacción suavemente, bajo argón, a temperatura ambiente durante 18 h. Se eliminó la resina por filtración, se lavó con CH₂Cl₂ (3 x 10 ml), CH₃OH (2 x 10 ml), Et₂O (5 x 5 ml) y se secó a vacío, a 40°C durante 48 h. Esto dio la amida de resina de aminopoliestireno de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 8-oxa-6,6,7,7,9,9,10,10-octafluorodecanoico-10-sulfonato)- β -D-manopiranosido como un sólido amarillo pálido (87 mg, 99%). Carga: teórica = 0,73 mmol/g; hallada (F microanálisis) = 0,55 mmol/g $\nu_{\max}$ (en perla)/cm⁻¹ 2931w, 1662m, 1493m, 1452m, 1410m, 1275m, 1146s, 1094s, 1025s, 919s; ¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃, ref. CFCl₃) δ : -, -82,01, -88,13, -113,86, -118,23.

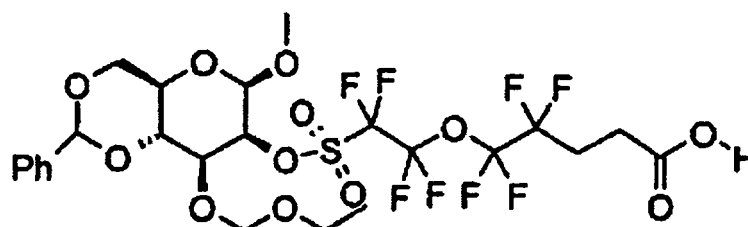
Ejemplo 3

Preparación de amida de resina de aminopoliestireno de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 6-oxa-4,4,5,5,7,7,8,8-octafluoro-decanoico-8-sulfonato)-β-D-manopiranosido



Ejemplo 3 (i)

Metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 6-oxa-4,4,5,5,7,7,8,8-octafluoro-decanoico-8-sulfonato)-β-D-manopiranosido



A metil-4,6-O-bencilidín-3-etoximetil-2-(5-yodo-octafluoro-3-oxapentanosulfonato)-β-D-manopiranosido (producto intermedio 1), 1,0 g, 1,34 mmol) y ácido acrílico (101 mg, 1,41 mmol) en CH₃CN: H₂O (8 ml: 4 ml) se añadió NaHCO₃ (135 mg, 1,61 mmol) y Na₂S₂O₄ (85%, 322 mg, 1,61 mmol) y se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 45 minutos. La reacción se concentró a vacío, se disolvió en Et₂O (150 ml), se lavó con agua (150 ml) y la fase acuosa se retroextrajo con Et₂O (100 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (150 ml), se secó (MgSO₄ anhidro) y se concentró a vacío. La purificación mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con EtOAc:hexano (1:4) a EtOAc:hexano (1:0), dio el producto deseado como un aceite incoloro (419 mg, 38%).

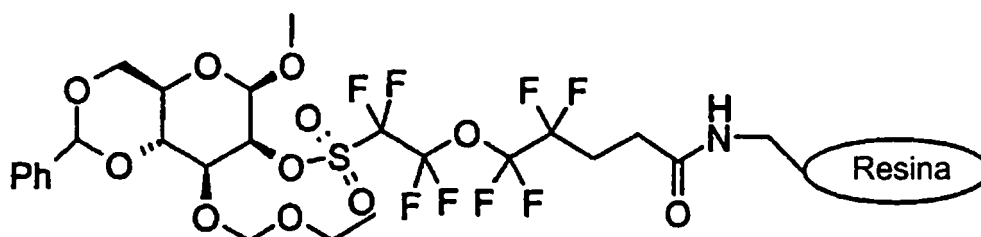
¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ: 7,52-7,32 (5H, m, Ph), 5,58 (1H, s, PhCHO₂), 5,15 (1H, d, J = 2,9 Hz, H²), 4,83 (2H, AB, J = 7,4 Hz, OCH₂O), 4,61 (1H, s, H¹), 4,30 (1H, q, J = 5,2 Hz, H⁶), 4,16 (1H, dd, J = 2,9, 10,3 Hz, H³), 3,90-3,78 (2H, m, H⁴, H⁶), 3,75-3,62 (2H, m, CH₂), 3,58 (3H, s, CH₃O), 3,51-3,42 (1H, m, H⁵), 2,68 (2H, t, J = 7,4 Hz, CH₂), 2,55-2,36 (2H, m, CH₂), 1,65-1,15 (3H, t, J = 7,4 Hz, CH₃); ¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃) δ: 176,63 (CO), 137,11, 129,31, 128,38, 126,20 (Ph), 101,92 (PhCHO₂), 99,19 (C¹), 93,93 (OCH₂O), 83,61 (C²), 77,23 (C⁴), 71,09 (C³), 68,41 (C⁶), 67,58 (C⁵), 64,01 (CH₂O), 57,54 (CH₃O), 25,97, 25,69 (CH₂), 14,94 (CH₃);

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃, ref. C₆F₆) δ: 79,82, 73,56, 47,73, 43,27; m/z (ES⁻) 804,8 [M + TFA]⁻, 1382,20 [2M]⁻.

ν_{max} (película)/cm⁻¹ 2972w, 1722m, 1412m, 1193s, 1148s, 1096s, 1026s, 921s.

Ejemplo 3 (ii)

Amida de resina de aminopoliestireno de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 6-oxa-4,4,5,5,7,7,8,8-octafluoro-decanoico-8-sulfonato)-β-D-manopiranosido



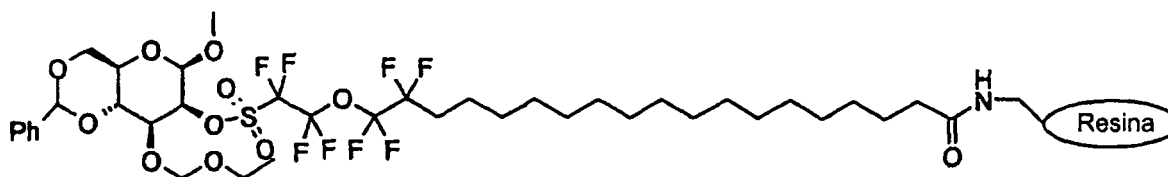
A poliestireno aminometilado (NovaBiochem, malla 50-100, 01-64-0383, lote A24063, carga: 1,5 mmol/g, 145 mg, 0,218 mmol) y el compuesto del ejemplo 3(i) (200 mg, 0,289 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (2 ml) se añadió N,N-diisopropiletilamina (75 mg, 100 μl , 0,579 mmol), seguido por cloruro de difenilfosforilo (68 mg, 55 μl , 0,289 mmoles). Se agitó la reacción suavemente, bajo argón, a temperatura ambiente durante 18 h. Se eliminó la resina por filtración, se lavó con CH_2Cl_2 (3 x 5 ml), CH_3OH (3 x 5 ml), Et_2O (5 x 5 ml) y se secó a vacío, a 40°C durante 24 h. Esto dio la resina del título como un sólido amarillo pálido (283 mg, 94%).

Carga: teórica = 0,75 mmol/g; hallada (F microanálisis) = 0,80 mmol/g

^{19}F -RMN (282 MHz, CDCl_3 , ref. CFCl_3) δ : -81,84, -87,79, -113,67, -117,96.

Ejemplo 4

Preparación de amida de resina de aminopoliestireno de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 20-oxa-18,18,19,19,21,21,22,22-octafluoro-docosanoico-22-sulfonato)- β -D-manopiranosido



Ejemplo 4 (i)

Metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 16-yodo-20-oxa-18,18,19,19,21,21,22,22-octafluoro-docosanoico-22-sulfonato)- β -D-manopiranosido

El yoduro (producto intermedio 1, 1,0 g, 1,34 mmol) y ácido 16-heptadecenoico (Apollo Scientific, 378 mg, 1,41 mmol) en CH_3CN (30 ml) formaron una suspensión turbia. A esto se añadió H_2O (20 ml) seguido por NaHCO_3 (135 mg, 1,61 mmol) y $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ (al 85%, 322 mg, 16,1 mmol) y se agitó la reacción a temperatura ambiente durante 10 minutos. Se añadió una porción adicional de MeCN (25 ml) y H_2O (10 ml) pero la reacción permaneció turbia. Después de 1 h, la reacción se concentró a vacío, se disolvió en Et_2O (100 ml), se lavó con agua (100 ml) y la fase acuosa se extrajo con Et_2O (50 ml). La fase orgánica combinada se lavó con salmuera (100 ml), se secó (MgSO_4 anhidro) y se concentró a vacío para dar un aceite blanco turbio en bruto. La purificación mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con EtOAc:hexano (1:3), dio metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 16-yodo-20-oxa-18,18,19,19,21,21,22,22-octafluoro-docosanoico-22-sulfonato)- β -D-manopiranosido como un aceite incoloro (230 mg, 17%).

^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3) δ : 7,50-7,31 (5H, m, Ph), 5,58 (1H, s, PhCHO_2), 5,15 (1H, d, $J = 2,9$ Hz, H^2), 4,85 (2H, AB, $J = 7,4$ Hz, OCH_2O), 4,63 (1H, s, H^1), 4,40-4,28 (1H, m, CHI, H^6), 4,17 (1H, dd, $J = 2,9, 10,3$ Hz, H^3), 3,97-3,87 (2H, m, H^4 , H^6), 3,75-3,62 (2H, m, CH_2), 3,60 (3H, s, CH_3O), 3,52-3,42 (1H, m, H^5), 3,00-2,70 (2H, m, CH_2), 2,37 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, CH_2), 1,85-1,40 (4H, m, CH_2), 1,30-1,10 (22H, m, CH_2), 1,15 (3H, t, $J = 7,4$ Hz, CH_3);

^{13}C -RMN (100 MHz, CDCl_3) δ : 179,04 (CO), 137,56, 129,67, 128,76, 126,62 (Ph), 102,36 (PhCHO_2), 99,64 (C^1), 94,47 (OCH_2O), 84,00 (C^2), 77,59 (C^4), 71,55 (C^3), 68,87 (C^6), 68,06 (C^5), 64,41 (CH_2O), 57,91 (CH_3O), 42,02, 41,82, 41,62, 40,91, 34,48, 30,17, 30,14, 30,10, 29,99, 29,93, 29,81, 29,65, 29,10, 25,32 (CH_2), 21,79 (CHI), 15,40 (CH_3);

^{19}F -RMN (282 MHz, CDCl_3 , ref. C_6F_6) δ : 80,20, 73,14, 47,87, 43,76; m/z (ES^-) 1013,1 [M] $^-$, 1127,5 [$\text{M} + \text{TFA}$] $^-$.

ν_{max} (película)/ cm^{-1} 2927w, 2855w, 1725m, 1412m, 1194s, 1149s, 1096s, 1026s, 921s.

Ejemplo 4 (ii)

Preparación de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 20-oxa-18,18,19,19,21,21,22,22-octafluoro-docosanoico-22-sulfonato)- β -D-manopiranosido

A metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 16-yodo-20-oxa-18,18,19,19,21,21,22,22-octafluoro-docosanoico-22-sulfonato)- β -D-manopiranosido (preparado según se describe en el ejemplo 4(i)) (200 mg, 0,204 mmol) en Et_2O (4 ml) se añadió zinc (99,998%, malla 100, 80 mg, 1,23 mmol) y ácido acético (2 ml) y la reacción se puso a reflujo, bajo argón, durante 3 h (temperatura del baño = 80°C). Se dejó enfriar la reacción hasta temperatura ambiente y se decantó del zinc, el zinc se lavó con Et_2O (3 x 30 ml). Los lavados combinados se concentraron a vacío. La purificación mediante cromatografía en columna sobre gel de sílice, eluyendo con EtOAc:hexano (1:3), dio metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 20-oxa-18,18,19,19,21,21,22,22-octafluoro-docosanoico-22-sulfonato)- β -D-manopiranosido como un aceite incoloro (132 mg, 75%).

ES 2 279 403 T3

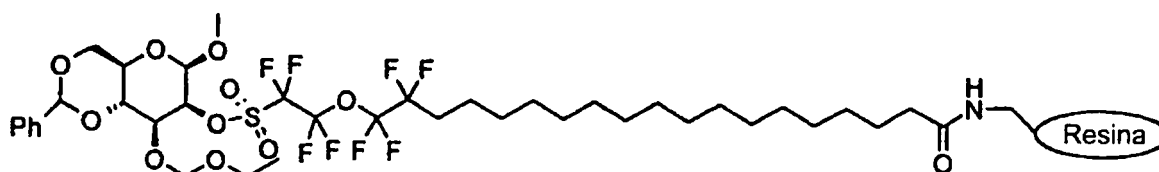
^1H -RMN (300 MHz, CDCl_3) δ : 7,50-7,35 (5H, m, Ph), 5,60 (1H, s, PhCHO_2), 5,15 (1H, d, $J = 2,9$ Hz, H^2), 4,83 (2H, AB, $J = 7,4$ Hz, OCH_2O), 4,61 (1H, s, H^1), 4,36 (1H, q, $J = 5,1$ Hz, H^6), 4,20-4,12 (1H, m, H^3), 3,95-3,85 (2H, m, H^4 , H^6), 3,75-3,60 (2H, m, CH_2), 3,58 (3H, s, CH_3O), 3,51-3,42 (1H, m, H^5), 2,37 (2H, t, $J = 7,4$ Hz, CH_2), 1,70-1,55 (4H, m, CH_2), 1,40-1,20 (26H, m, CH_2), 1,15 (3H, t, $J = 7,4$ Hz, CH_3);

^{13}C -RMN (75 MHz, CDCl_3) δ : 179,40 (CO), 137,07, 129,51, 128,60, 126,45 (Ph), 102,19 (PhCHO_2), 99,49 (C^1), 94,28 (OCH_2O), 83,70 (C^2), 77,58 (C^4), 71,43 (C^3), 68,71 (C^6), 67,89 (C^5), 64,29 (CH_2O), 57,78 (CH_3O), 34,46, 31,02, 30,80, 30,58, 30,04, 29,99, 29,84, 29,80, 29,65, 29,49, 25,17, 21,43, 20,70 (CH_2), 15,21 (CH_3); ^{19}F -RMN (282 MHz, CDCl_3 , ref. C_6F_6) δ : 80,01, 74,08, 47,96, 43,34; m/z (ES^-) 887,1 $[\text{M}]^-$.

ν_{max} (película)/ cm^{-1} 2926w, 2854w, 1711m, 1412m, 1191, 1149s, 1096s, 1027s, 920s.

Ejemplo 4 (iii)

Amida de resina de aminopoliestireno de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(20-oxa-ácido 18,18,19,19,21,21,22,22-octafluoro-docosanoico-22-sulfonato)- β -D-manopiranosido



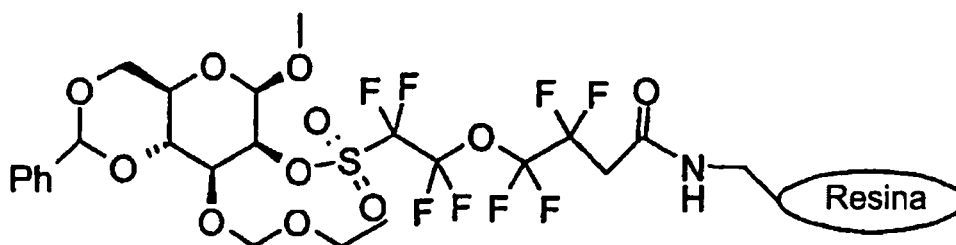
Se añadió a poliestireno aminometilado (NovaBiochem, malla 50-100, 01-64-0383, lote A24063, carga: 1,5 mmol/g, 62 mg, 0,093 mmol) y metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 20-oxa-18,18,19,19,21,21,22,22-octafluorodocosanoico-22-sulfonato)- β -D-manopiranosido (preparado según se describe en el ejemplo 4(ii)) (108 mg, 0,121 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (3 ml) de N,N-diisopropiletilamina (42 μl , 0,243 mmol), seguido por cloruro de difenilfosforilo (29 mg, 0,121 mmol). Se agitó la reacción suavemente, bajo argón, a temperatura ambiente durante 18 h. La resina se eliminó por filtración, se lavó con CH_2Cl_2 (3 x 10 ml), CH_3OH (3 x 10 ml), Et_2O (3 x 10 ml) y se secó a vacío, a 40°C durante 48 h. Esto dio la amida de resina de aminopoliestireno de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 20-oxa-18,18,19,19,21,21,22,22-octafluoro-docosanoico-22-sulfonato)- β -D-manopiranosido como un sólido amarillo pálido (136 mg, 86%).

Carga: teórica = 0,65 mmol/g; encontrada (F microanálisis) = 0,52 mmol/g ^{19}F -RMN (282 MHz, CDCl_3 , ref. CFCl_3) δ : -82,06, -88,14, -113,93, -118,34.

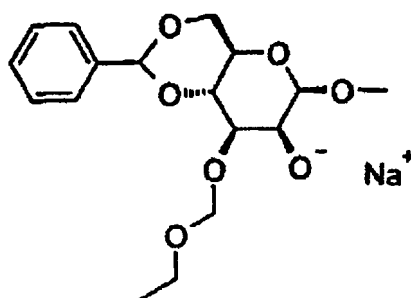
ν_{max} (en perla)/ cm^{-1} 2925m, 1662m, 1493m, 1453m, 1411 m, 1146m, 1095s, 1025s.

Ejemplo comparativo 5

Preparación de amida de resina de aminopoliestireno de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 5-oxa-3,3,4,4,6,6,7,7-octafluoro-decanoico-7-sulfonato)- β -D-manopiranosido

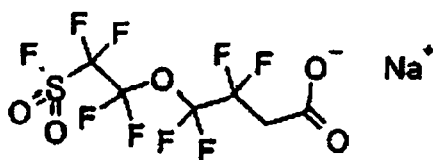


Ejemplo 5(i)



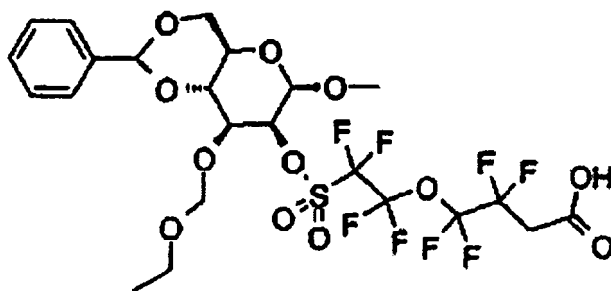
Se disolvió metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil- β -D-manopiranosido (producto intermedio 1(iv)) (0,5 g, 1,47 mmol) en THF (10 ml) y se añadió después NaH (1,1 eq., 1,62 mmol, 0,11 g) tras lavar con hexano seco. La mezcla se calentó a reflujo durante 15 minutos bajo nitrógeno para dar una disolución de sal sódica de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil- β -D-manopiranosido en THF.

Ejemplo 5(ii)



Se disolvió fluoruro de 3,3,4,4,6,6,7,7-octafluoro-5-oxo-7-sulfonyl-ácido heptanoico (1,5 eq., 0,79 g, 2,21 mmol) preparado tal como se describe en el documento WO 02/055026 en THF (10 ml) y NaH (1,1 eq., 0,162 g, 2,43 mmol) se lavó con hexano seco y se añadió para dar después de la agitación durante quince minutos, sal sódica del ácido heptanoico-fluoruro de 3,3,4,4,6,6,7,7-octafluoro-5-oxo-7-sulfonyl THF.

Ejemplo 5(iii)



Se añadió sal sódica de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil- β -D-manopiranosido en THF (Ejemplo 5(i)) a la sal sódica del ácido heptanoico-fluoruro de 3,3,4,4,6,6,7,7-octafluoro-5-oxo-7-sulfonyl en THF (Ejemplo 5(ii)) con una pipeta y se agitó la mezcla a TA durante 24 horas bajo nitrógeno. Se acidificó la disolución amarilla helada con ácido acético al 99% (6 eq.) y se añadió acetato de etilo (50 ml) y agua (30 ml). Se separó la fase orgánica y se extrajo la fase acuosa con acetato de etilo. Los lavados orgánicos combinados se secaron sobre MgSO_4 y se concentraron a vacío para dar un aceite amarillo incoloro que se secó a alto vacío durante 3 horas. La ^1H y ^{19}F -RMN mostraron que la reacción dio EOM-manosa-conector saturado al 60% en el producto bruto. Este material se purificó por HPLC de fase inversa en un sistema de fase inversa automatizado Gilson. Se evaporaron las fracciones parcialmente en un evaporador rotatorio y se liofilizaron para dar metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 5-oxa-,3,3,4,4,6,6,7,7-octafluoro-decanoico-7-sulfonato)- β -D-manopiranosido como un sólido blanco esponjoso (0,3 g, 30%).

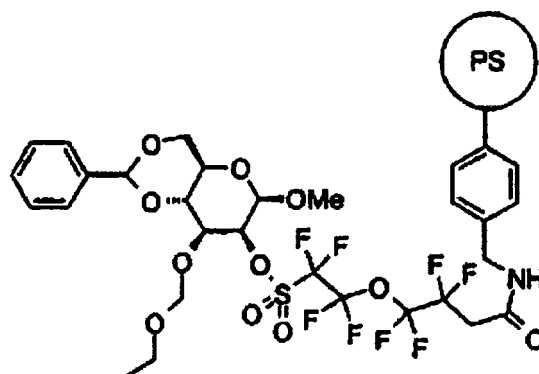
^1H -RMN CDCl_3 TMS ref δ : 7,44 (2H, fenilbencilideno), 7,35 (3H, fenilbencilideno), 5,58 (s, 1H, bencilideno), 5,14 (d, 1H, H-2, $J = 2,7$ Hz), 4,80 (2H, 2 dobletes, EOM- CH_2 , $J^2 = 7,5$ Hz), 4,60 (s, 1H, H-1), 4,35 (dd, 1H, H-3, $J = 5,10$, 5 Hz), 4,12 (dd, 1H, H-4, $J = 10$, 5,10 Hz), 3,89 (2H, 2 cuartetos, etil CH_2), 3,70 (2H, dos dt, H-6), 3,56 (s, 3H, 1-OMe), 3,45 (1H, ddd, H-5), 3,08 (t, 2H, $\text{CH}_2\text{-CF}_2$), 1,09 (3H, t, metil),

ES 2 279 403 T3

^{19}F -RMN (CDCl_3 , CFCl_3 referencia): δ -82,5, -88,6, -114,3, -117,4.

$\text{C}_{23}\text{H}_{26}\text{F}_8\text{O}_{12}\text{S}$ requerida C, 40,72%; H, 3,86%; F, 22,4%. Encontrada: C, 40,53%; H, 3,94%; F, 21,52.

Ejemplo 5(iv)



Se añadió diisopropiletilamina (2 mmol, 0,26 g) a una disolución de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 5-oxa-3,3,4,4,6,6,7,7-octafluoro-decanoico-7-sulfonato)- β -D-manopiranosido Ejemplo 5(iii) (0,442 mmol, 0,3 g), resina PS aminometilada (0,398 mmol, 0,265 g) y cloruro difenilfosfínico (0,885 mmol, 0,21 g) en DCM (8 ml). Se agitaron las mezclas a TA durante 3 horas. El sobrenadante se eliminó por filtración y la resina se lavó con una disolución de diisopropiletilamina (3 x 2 ml) (20 mmol en DCM, 36 ml) y DCM y después 5 veces con metanol. Finalmente, la resina se secó a vacío para dar la amida de resina de aminopoliestireno de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 5-oxa-3,3,4,4,6,6,7,7-octafluoro-decanoico-7-sulfonato)- β -D-manopiranosido.

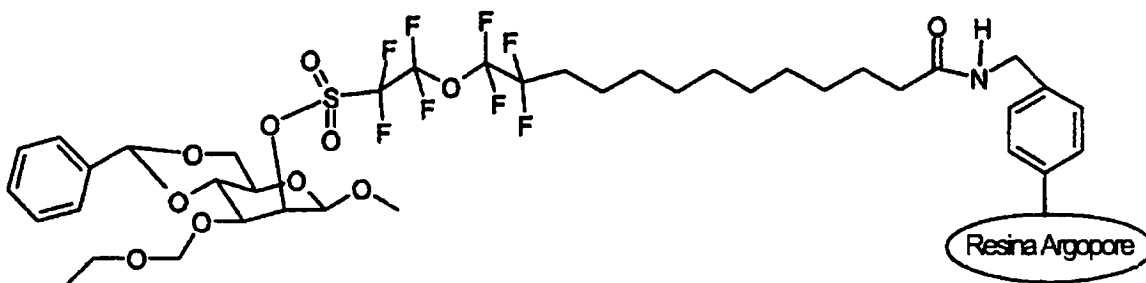
Fase en gel ^{19}F -RMN CDCl_3 ref CFCl_3 : δ -82,4, -89,0, -114,3, -116,0

Carga / análisis elemental

Elemento	% Encontrado	Carga calculada mmol/g
N	1,25	0,89
F	6,89	0,45

Ejemplo 6

Preparación de amida de resina Argopore de aminometilfenilo de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 14-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)- β -D-manopiranosido



Se añadió a Argopore (Argonaut Technologies, tamaño de partícula =134 μm , 800047, lote 00130, carga: 0,75 mmol/g, 200 mg, 0,15 mmol) y metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(ácido 3-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)- β -D-manopiranosido del ejemplo 1 (ii) (157 mg, 0,195 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (1,5 ml), N,N-diisopropiletilamina (50 mg, 67 μl , 0,39 mmol), seguido por cloruro de difenilfosforilo (46 mg, 0,195 mmol). Se agitó la reacción suavemente, bajo argón, a temperatura ambiente durante 18 h. Se eliminó la resina por

filtración, se lavó con CH_2Cl_2 (3 x 5 ml), CH_3OH (3 x 5 ml), Et_2O (5 x 5 ml) y se secó a vacío, a 40°C durante 24 h. Esto dio la amida de resina Argopore de aminometilfenilo de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 14-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)- β -D-manopiranosido como un sólido amarillo pálido (302 mg, 86% (en peso)).

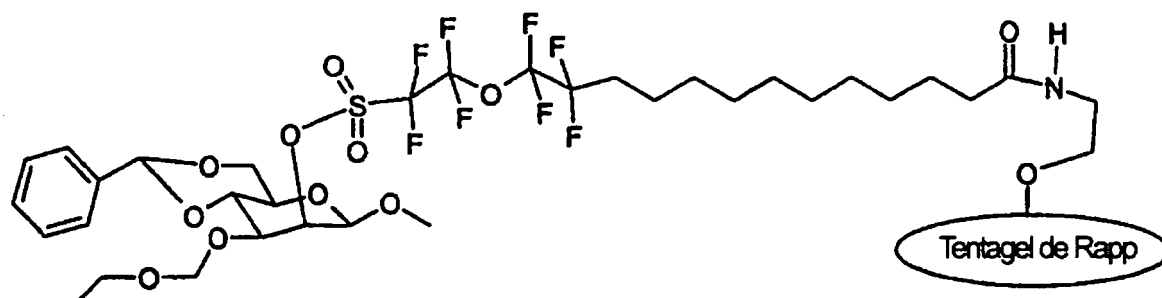
Carga: teórica = 0,472 mmol/g

ν_{max} (en perla)/ cm^{-1} 2928m, 1738s, 1493w, 1452m, 1414m, 1373m, 1216s, 1094s, 1026s, 919m;

^{19}F -RMN (282 MHz, CDCl_3 , ref. CFCl_3) δ : -82,07, -88,50, -113,65 (picos anchos).

Ejemplo 7

Preparación de amida de resina TentaGel de aminoetoxilo de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 14-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)- β -D-manopiranosido



Se añadió a TentaGel S NH_2 (polímero de Rapp, tamaño de partícula = $130\ \mu\text{m}$, S30 132, carga: 0,25 mmol/g, 200 mg, 0,05 mmol) y metil-4,6-O-bencilidín-3-etoximetil-2-(ácido 3-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)- β -D-manopiranosido, ejemplo 1 (ii) (84 mg, 0,104 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (2,5 ml) N,N-diisopropiletilamina (26,8 mg, $36\ \mu\text{l}$, 0,208 mmol), seguido por cloruro de difenilfosforilo (24,6 mg, 0,104 mmol). Se agitó la reacción suavemente, bajo argón, a temperatura ambiente durante 18 h. Se eliminó la resina por filtración, se lavó con CH_2Cl_2 (3 x 5 ml), CH_3OH (3 x 5 ml), Et_2O (5 x 5 ml) y se secó a vacío, a 40°C durante 24 h. Esto dio la amida de resina TentaGel de aminoetoxilo de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 14-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)- β -D-manopiranosido como un sólido amarillo pálido (230 mg, 76% (en peso)).

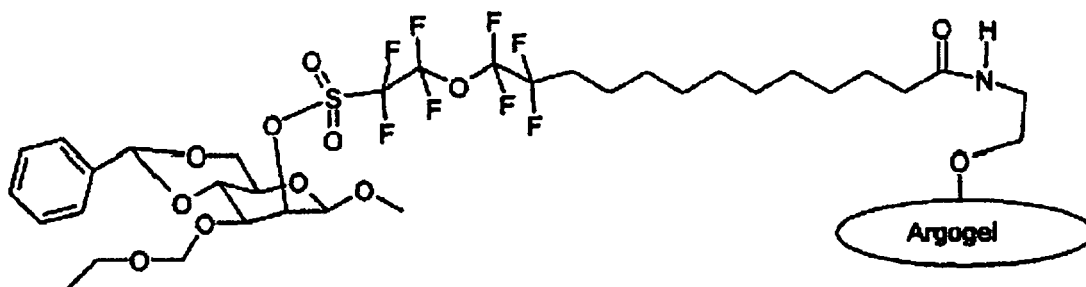
Carga: teórica = 0,21 mmol/g

ν_{max} (en perla)/ cm^{-1} 3459 a, 2914m, 2875m, 1738m, 1453m, 1351m, 1216m, 1091s, 948m;

^{19}F -RMN (282 MHz, CDCl_3 , ref. CFCl_3) δ : -82,03, -88,10, -113,92, -118,22.

Ejemplo 8

Preparación de amida de resina Argogel Gel de aminoetoxilo de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 14-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)- β -D-manopiranosido



Se añadió a Argogel (Argonaut Technologies, 800007, carga: 0,40 mmol/g, 200 mg, 0,08 mmol) y el metil-4,6-O-bencilidín-3-etoximetil-2-(ácido 3-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)- β -D-manopiranosido, ejemplo 1 (ii) (55 mg, 0,065 mmol) en CH_2Cl_2 anhidro (2,5 ml) N,N-diisopropiletilamina (17 mg, $23\ \mu\text{l}$, 0,13 mmol), seguido por cloruro de difenilfosforilo (15,4 mg, 0,065 mmol). La reacción se agitó suavemente, bajo argón, a temperatura ambiente durante 18 h. Se eliminó la resina por filtración, se lavó con CH_2Cl_2 (3 x 5 ml), CH_3OH

ES 2 279 403 T3

(3 x 5 ml), Et₂O (5 x 5 ml) y se secó a vacío, a 40°C durante 24 h. Esto dio la amida de resina LCAA-CPG de aminoalquilo de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 14-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)-β-D-manopiranosido como un sólido amarillo pálido (244 mg, 70% (en peso)).

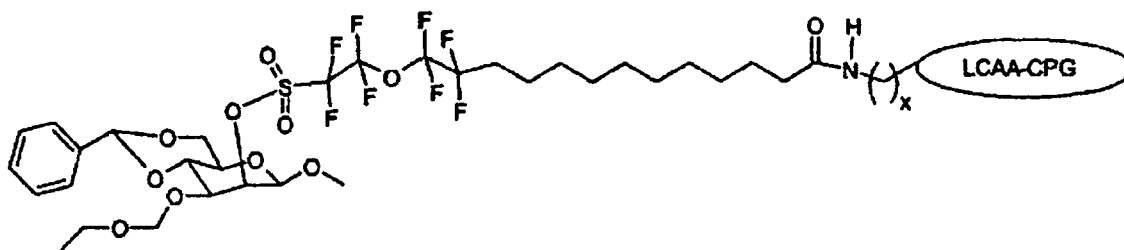
Carga: teórica = 0,30 mmol/g

$\nu_{\max}$ (en perla)/cm⁻¹ 3483a, 2914m, 2873m, 1738m, 1454m, 1350m, 1216m, 1092s, 948m;

¹⁹F-RMN (282 MHz, CDCl₃, ref. CFCl₃) δ: -82,01, -88,08, -113,91, -118,20.

Ejemplo 9

Preparación de amida de resina LCAA-CPG de aminoalquilo de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 14-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)-β-D-manopiranosido



Se añadió a un vidrio de poro controlado de alquilamino de cadena larga (LCAA-CPG, Link Technologies, carga: 0,092 mmol/g, 200 mg, 0,0184 mmol) y metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(ácido 3-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)-β-D-manopiranosido, ejemplo 1 (ii) (30 mg, 0,037 mmol) en CH₂Cl₂ anhidro (2 ml) N,N-diisopropiletilamina (9,5 mg, 13 μl, 0,074 mmol), seguido por cloruro de difenilfosforilo (9 mg, 0,037 mmol). La reacción se hizo girar suavemente (no se agitó para evitar romper las perlas de vidrio), bajo argón, a temperatura ambiente durante 18 h. Se eliminó la resina por filtración, se lavó con CH₂Cl₂ (3 x 5 ml), CH₃OH (3 x 5 ml), Et₂O (5 x 5 ml) y se secó a vacío, a 40°C durante 24 h. Esto dio la amida de resina LCAA-CPG de aminoalquilo de metil-4,6-O-benciliden-3-etoximetil-2-(ácido 14-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)-β-D-manopiranosido como un sólido blanco (212 mg, 80% (en peso)).

Carga: teórica = 0,086 mmol/g.

Ejemplos 10-21

Síntesis de azúcar con conector de resina con cargas reducidas del conector de azúcar mediante el uso de menos de la cantidad estequiométrica de conector de azúcar comparado con los grupos amino en la resina disponibles durante la reacción. (Ejemplos 10, 12, 14, 16, 18, 20).

Extremo ocupado por acetilo de grupos amino sin reaccionar en resinas con menos de la carga estequiométrica del conector de azúcar. (Ejemplos 11, 13, 15, 17, 19, 21).

Carga de conector de azúcar en la resina en acetonitrilo, en lugar de diclorometano. (Ejemplos 20, 21)

Procedimiento general para la síntesis de ejemplos 10-19

Se trató metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(ácido 3-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)-β-D-manopiranosido preparado tal como se describe en el ejemplo 1(ii) en diclorometano seco en un tubo con filtro grande con resina de aminopoliestireno (NovaBiochem 01-64-0143 1,4 mmoles/g), diisopropiletilamina (DIPEA) y cloruro difenilfosfínico (DppCl) en ese orden. Las reacciones se agitaron en una agitadora "Blood wheel" a una temperatura ambiente durante 4 h. El líquido de la reacción se eliminó por filtración y la resina se lavó secuencialmente con diclorometano y metanol (tres veces). Las resinas se secaron a alto vacío hasta obtener un peso constante para dar la amida de resina de poliestireno de metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(ácido 3-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-exadecanoico-16-sulfonato)-β-D-manopiranosido.

Ocupación de extremos - Procedimiento general, Ejemplos 11, 13, 15, 17, 19, 21

Se trataron las muestras obtenidas según los ejemplos 10, 12, 14, 16, 18, y 20 con anhídrido acético y piridina en DCM, o bien en un tubo de reacción en una agitadora (ejemplos 10, 12, 14, 16, 18) o en un matraz cónico sellado en una agitadora rotatoria (ejemplo 20) durante 2 días. Se eliminó el líquido de la reacción por filtración y las resinas se lavaron secuencialmente con diclorometano y metanol (tres veces). Una prueba de Kaiser mostró que las resinas contenían alguna amina primaria libre. Esto se confirmó por una prueba de color con TNBSA. Estas resinas se hicieron reaccionar

ES 2 279 403 T3

con anhídrido acético y piridina de nuevo según el mismo procedimiento durante 2 días. Se eliminó el líquido de la reacción por filtración y las resinas se lavaron secuencialmente con diclorometano y metanol (tres veces). Las resinas se secaron a alto vacío hasta obtener un peso constante para dar la amida de resina de aminopoliestireno de metil-4,6-O-bencilidin-3-etoximetil-2-(ácido 3-oxa-12,12,13,13,15,15,16,16-octafluoro-hexadecanoico-16-sulfonato)- β -D-manopiranosido con los extremos ocupados. La prueba de Kaiser dio negativo en grupos amino libres en estas resinas.

Procedimiento general para los ejemplos 20-21

Al igual que en los ejemplos 10 a 19 usando acetonitrilo seco como disolvente.

Cantidades de reactivos usados en la síntesis de los ejemplos 10-21 (tabla 1)

TABLA 1

Ej	Car ga mm ol/g	Cantidad /g	Cantid ad de resina base/g	Cantid ad de azúcar conect or/g	Dpp -Cl/g	DIPEA/ g	Ac ₂ O/ g	Py/g	CH ₂ Cl ₂ /ml
10	0,3	0,5	0,382	0,121	0,07 1	0,078	0	0	4
11	0,3	0,5	0,368	0,121	0,07 1	0,078	0,167	0,25	4
12	0,1	1	0,921	0,080	0,04 7	0,057	0	0	10
13	0,1	1	0,877	0,081	0,04 7	0,052	0,53	0,82	10
14	0,03	3	2,929	0,0724	0,04 2	0,046	0	0	25
15	0,03	3	2,778	0,0724	0,04 2	0,046	1,80	2,79	25
16	0,01	5	4,961	0,0402	0,02 3	0,026	0	0	50
17	0,01	5	4,700	0,0402	0,02 3	0,026	3,09	4,80	50
18	0,00 3	10	9,976	0,0241	0,01 4	0,015	0	0	100
19	0,00 3	10	9,50	0,0241	0,01 4	0,015	6,25	9,69	100
20	Máx	0,3	0,148	0,155	0,09	0,1	0	0	MeCN
21	Máx	0,3	0,148	0,155	0,09	0,1	0,188	0,29	MeCN

Datos analíticos recogidos por los ejemplos 10-21

ES 2 279 403 T3

RMN

Las muestras de ^{19}F -RMN en fase gel se prepararon tal como se describe en el ejemplo 1(Viii), se desarrollaron en CDCl_3 usando 128 barridos con referencia a CFCl_3 .

Los ejemplos 10, 11, 12, 13, 14, 15, 20 y 21 mostraron 4 picos a $\delta = -82,5, -88,5, -114,4, -118,8$

Los espectros de los ejemplos 16 y 17 no tenían picos claramente resueltos con 128 barridos. No se obtuvo espectro de los ejemplos 18 ó 19. La razón entre señal a ruido en los espectros de los ejemplos 20 y 21 estaba entre la de los ejemplos 12 y 14.

Elemental análisis de flúor

Utilizando los procedimientos 1 y 2 descritos en el ejemplo 22.

TABLA 2

Ejemplo	%F Proc. 1	% F Proc. 2	Promedio %F	Carga calculada (mmol/g)
10	4,51	4,86	4,67	0,306
11	6,29	5,24	5,77	0,380
12	1,26	1,79	1,525	0,100
13	1,70	1,42	1,56	0,103
14	0,46	0,41	0,435	0,029
15	0,20	0,21	0,205	0,014
16	0,12	0,06	0,09	0,006
17	0,22	0,24	0,23	0,002
18	0,40	0,46	0,43	0,028
19	0,07	0,22	0,145	0,010
20	0,40	0,41	0,405	0,027
21	1,02	0,86	0,94	0,062

Ejemplo 22

Radiomarcaje

Procedimiento 1 para la determinación del rendimiento de FDG en el tratamiento de una resina ejemplo con ^{18}F -Fluoruro

Se colocó un vaso de reacción de vidrio de carbono en un calentador de bronce y se ajustó la tapa del recipiente (con tres canalizaciones unidas para permitir la evaporación, el flujo de nitrógeno y la adición de los reactivos) y el sistema completo se comprobó para que no tuviera fugas. Se transfirió Kriptofix (22 mg) en acetonitrilo (300 μl) y carbonato potásico (8 mg) en agua (300 μl), usando una jeringa de plástico (1 ml) en el vaso de reacción de vidrio de carbono. Se añadió el ^{18}F -fluoruro y se calentó a 125°C. A los 15 min se añadieron tres alícuotas de acetonitrilo (0,5 ml) a intervalos de 1 minuto. El ^{18}F -Fluoruro se secó hasta 40 minutos en total. Se enfrió el calentador hasta temperatura ambiente, se quitó la tapa del recipiente y se añadió acetonitrilo (0,2 ml). Se volvió a colocar la tapa del recipiente y las canalizaciones se taparon con tapones. El calentador se fijó a 100°C durante 10 minutos y se volvió a disolver el ^{18}F -fluoruro. Tras enfriar hasta temperatura ambiente una vez más usando una jeringa de plástico (1 ml), el acetonitrilo (0,2 ml) se transfirió a un segundo vaso de reacción de fibra de vidrio que contiene la resina (20-25 mg). Este vaso de vidrio de carbono se transfirió a una cámara de iones y se midió la actividad de marcaje. Se substituyó el vaso de vidrio de carbono en el calentador de bronce y se ajustó la tapa del recipiente. Se calentó la reacción hasta 86°C durante 4 minutos antes de enfriar con aire comprimido. Se quitó la tapa del recipiente, se añadió acetonitrilo (1 ml) y se midió la actividad en el vaso de reacción. Usando una jeringa de plástico (5 ml) y una aguja beige (19 G x 2"), la resina se mezcló y se extrajo en una jeringa de plástico (5 ml). La mezcla de la reacción se inyectó entonces con una jeringa a través de una jeringa sinterizada y se vertió en un vial de recogida. El vaso de reacción se lavó con un volumen adicional de acetonitrilo (0,5 ml) y se pasó a través de la jeringa sinterizada. Se midió la actividad en el

vial de recogida y también en la aguja sinterizada y de resina. Se tomaron las muestras para el análisis de HPLC RP para determinar el rendimiento de incorporación del ^{18}F -fluoruro en el azúcar protegida.

Procedimiento 2 para la determinación del rendimiento de FDG en el tratamiento de una resina ejemplo con ^{18}F -fluoruro

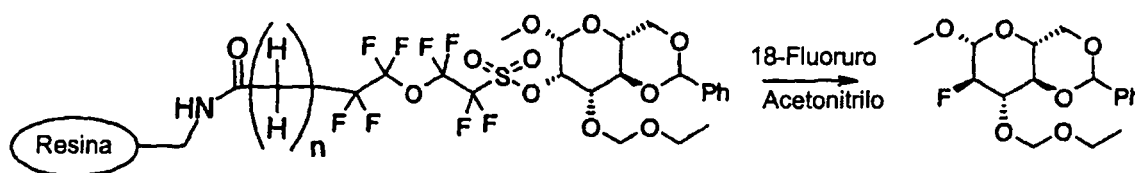
La resina que se va a probar (30 mg) se empaqueta en un cartucho de teflón pequeño 2 cm x 2,5 mm di. Esto se une a un sistema de HPLC equilibrado previamente con MeCN seco y se establece el flujo a 50 μ l/min. El cartucho se coloca en un calentador de la columna de HPLC que se ajusta para aumentar la temperatura del cartucho hasta 85°C.

Se puso en un vaso de secado una mezcla de Kryptofix 222, (12,7 mg), disolución acuosa de carbonato potásico (100 μ l), (carbonato potásico (13,4 mg) en agua (1 ml)) acetonitrilo (0,5 ml) y 37 mmBq de ^{18}F -fluoruro libre de vehículo en O-18 agua (1 ml). Los disolventes volátiles se evaporaron por calentamiento a 125°C bajo una corriente de nitrógeno seco durante 10 minutos y el residuo se dejó enfriar, y después se volvió a disolver en acetonitrilo seco (1 ml). Este proceso se repitió tres veces para eliminar cualquier resto de agua y el residuo seco se disolvió finalmente en 1 ml de acetonitrilo.

Esta disolución de ^{18}F -fluoruro en acetonitrilo (100 μl) se inyectó en el cartucho usando la válvula de inyección de HPLC. Una disolución radiactiva de fluoruro fluye en consecuencia a través del cartucho reaccionando con la resina a medida que va pasando. Se controló el eluyente usando un detector radiométrico y un detector UV. El producto sale de la columna en un volumen aproximado de 1 cartucho en el plazo de dos minutos y se recoge el producto radiactivo y se somete posteriormente a un análisis de HPLC en fase inversa y de CCF. Se usa la razón de fluorodesoxiglucosa protegido con F-18 con respecto a fluoruro-18 libre para estimar el rendimiento radioquímico. Este procedimiento también muestra si se genera cualquier otra especie química en la reacción.

Resultados

Rendimiento radioquímico de FDG protegida en función del número de CH₂' en el conector



El rendimiento de la FDG protegida en el tratamiento de los ejemplos (1-5) con ión fluoruro se muestra en la tabla

TABLA 3

Número de ejemplo	n (CH ₂ en el conector)	% de rendimiento radioquímico	% de fluoruro que permaneció sin reaccionar
5	1	45 - 50	50 - 55
3	2	75,0	25
2	4	92,3	7,7
1	10	85 - 90	10 - 15
4	16	77	23

Resultados del efecto de la carga, del disolvente para la carga y la ocupación de extremos sobre el rendimiento radioquímico

El rendimiento de la FDG protegida en el tratamiento de los ejemplos (10-21) con ión fluoruro mostró que tenía un rendimiento radioquímico reducido con carga inferior a la máxima y que cuando la carga es inferior a la máxima, la realización de una etapa de ocupación de extremos (según se describe en los ejemplos 11, 13, 15, 17, 19, y 21) es ventajoso.

ES 2 279 403 T3

Ejemplo 23

Procedimiento de desprotección

- 5 La disolución eluida de la resina se hizo pasar entonces a través de un cartucho Sep Pak de sílice para eliminar el fluoruro. Se puso la disolución recogida en un vaso de reacción de vidrio de carbono limpio y se midió la actividad en la cámara iónica. Se calentó entonces el vaso de vidrio de carbono hasta 100°C durante 10 minutos para evaporar el disolvente, antes de enfriar. Se añadió HCl (6 M, 0,5 ml) y se calentó en un sistema cerrado a 120°C durante 5 minutos. Después de la neutralización con NaOH la mezcla de reacción se analizó usando cromatografía iónica.

10

15

20

25

30

35

40

45

50

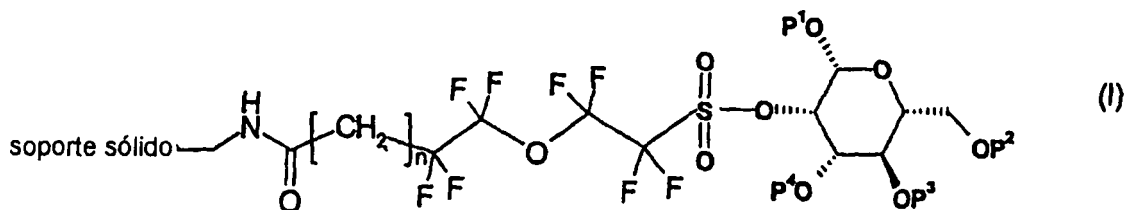
55

60

65

REIVINDICACIONES

1. Un compuesto de fórmula (I):



en el que P^1 , P^2 , P^3 , y P^4 son cada uno de ellos de forma independiente hidrógeno o un grupo protector; y n es un número entero desde 2 hasta 20.

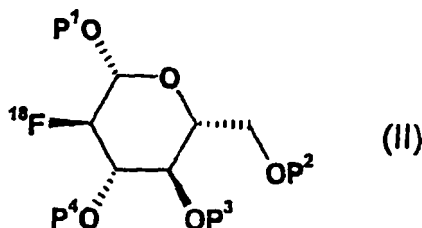
2. Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1, en el que n es de 4 a 12.

3. Un compuesto de fórmula (I) según la reivindicación 1 ó 2, en el que n es de 6 a 10.

4. Un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en el que n es 10.

5. Un procedimiento para la producción de 2- ^{18}F -fluoro-2-desoxi-D-glucosa (^{18}F -FDG) que comprende el tratamiento de un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4,

con $^{18}\text{F}^-$ para producir el trazador marcado de fórmula (II)



en el que P^1 , P^2 , P^3 , y P^4 son cada uno de ellos de forma independiente hidrógeno o un grupo protector; seguido de manera opcional por

(i) eliminar el $^{18}\text{F}^-$ en exceso, por ejemplo mediante cromatografía de intercambio iónico; y/o

(ii) eliminar los grupos protectores; y/o

(iii) eliminar el disolvente orgánico; y/o

(iv) formular el compuesto resultante de fórmula (II) como una disolución acuosa.

6. Un kit radiofarmacéutico para la preparación de ^{18}F -FDG para su uso en PET, que comprende:

(v) un vaso que contiene un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4; y

(vi) medios para eluir el vaso con una fuente de $^{18}\text{F}^-$;

(vii) un cartucho de intercambio iónico para eliminar el ^{18}F en exceso; y opcionalmente

(viii) un cartucho para la desprotección en fase sólida del producto resultante de fórmula (II) según la reivindicación

5.

7. Un cartucho para un kit radiofarmacéutico para la preparación de una ^{18}F -FDG para su uso en PET que comprende:

(i) un vaso que contiene un compuesto de fórmula (I) según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4; y

(ii) medios para eluir el vaso con una fuente de $^{18}\text{F}^-$.

8. Un procedimiento para obtener una imagen por PET de diagnóstico que comprende la etapa de usar un kit radiofarmacéutico o un cartucho para un kit radiofarmacéutico según la reivindicación 6 ó 7.