(2S)-3-[(3S,4S)-3-[(1R)-1-hidroxietil]-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-1-il]-3-oxopropano-1,2-diol Cristalino

Campo de la Invención

La presente invención proporciona (2S)-3-[(3S,4S)-3-[(1R)-1-hidroxietil]-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-1-il]-3-oxopropano-1,2-diol cristalino, composiciones farmacéuticas del mismo, métodos para usar el mismo, y procesos para preparar el mismo.

Antecedentes de la Invención

La vejiga hiperactiva (por sus siglas en inglés OAB) es una condición médica sintomáticamente definida que se refiere a los síntomas de frecuencia y urgencia urinaria, con o sin continencia de urgencia. La OAB es una condición que afecta adversamente la calidad de vida y funcionamiento social de aproximadamente 17 por ciento de la población adulta. A pesar del progreso hecho para tratamiento de OAB, muchos pacientes sufren con OAB por años sin resolución. La primera línea de tratamiento para OAB son fármacos muscarínicos los cuales tienen una buena respuesta inicial, pero la experiencia disminuye el cumplimiento del paciente durante un tiempo prologado debido a los efectos adversos y eficacia disminuida. Permanece una necesidad insatisfecha

significante para tratamientos de OAB seguro y efectivo.

Los nucleótidos cíclicos (cAMP y cGMP) son importantes mensajeros secundarios que modulan la contractibilidad del músculo liso. Las fosfodiesterasas del nucleótido cíclico (PDEs) hidrolizan los nucleótidos cíclicos y son importantes en la regulación del nivel y duración de acción de las células dentro de los nucleótidos cíclicos. Los compuestos, los cuales inhiben los niveles celulares elevados de PDE de nucleótidos cíclicos y de este modo se relajan muchos tipos de músculo liso. Estudios previos han mostrado que la relajación del músculo liso de la vejiga es principalmente mediada por agentes que elevan los cAMP. La fosfodiesterasa 4 (PDE4) es específico para cAMP y abundantemente expresado en la vejiga. Como tal, la PDE4 ha sido implicada en el control del tono del músculo liso de la vejiga *in vitro* y en modelos animales de vejiga hiperactiva (Kaiho, Y. et al. *BJU International* **2008**, 101(5), 615-620).

Los compuestos de la presente invención son inhibidores de fosfodiesterasa 4 (PDE4) y demostró selectividad para PDE4. Como tal, los compuestos de la presente invención se cree que son útiles para el tratamiento de condiciones en las cuales la PDE4 juega un papel tal como vejiga hiperactiva, que incluye alivio de síntomas asociados tal como frecuencia y urgencia. Además, la presente invención, una forma cristalina de (2S)-3-[(3S,4S)-3-[(1R)-1-

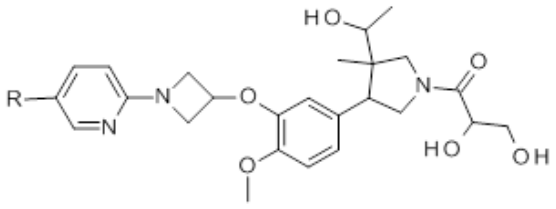
hidroxietil]-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-1-il]-3-oxopropano-1,2-diol, se cree que proporciona ventajas en el procesamiento, manipulación o capacidad de manufactura.

La Publicación de Solicitud Internacional WO 01/47905 describe ciertos compuestos de derivados de pirrolidina como inhibidores de fosfodiesterasa, en particular, PDE4, y describe los compuestos como útiles en el tratamiento de un número de enfermedades que incluyen asma.

Descripción Detallada de la Invención

La presente invención proporciona nuevos compuestos los cuales son inhibidores de PDE4 y como tal, son útiles en el tratamiento de vejiga hiperactiva y otros trastornos. Los compuestos proporcionan dirección de la necesidad para tratamientos seguros y efectivos de condiciones asociadas con PDE4 tal como vejiga hiperactiva.

La presente invención proporciona un compuesto de fórmula I



I

en donde R es hidrógeno o metilo, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

Un compuesto particular de fórmula I es uno en

donde R es metilo o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

Un compuesto particular de fórmula I es (2S)-3-[(3S,4S)-3-[(1R)-1-hidroxietil]-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-1-il]-3-oxopropano-1,2-diol, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

Además, la presente invención proporciona (2S)-3-[(3S,4S)-3-[(1R)-1-hidroxietil]-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-1-il]-3-oxopropano-1,2-diol cristalino.

Además, la presente invención proporciona (2S)-3-[(3S,4S)-3-[(1R)-1-hidroxietil]-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-1-il]-3-oxopropano-1,2-diol cristalino caracterizado por un patrón de difracción en polvo de rayos X usando radiación CuKα que tiene un pico de difracción en ángulo de difracción 2-teta de 18.5° en combinación con uno o más de los picos seleccionados del grupo que consiste de 16.2°, 20.2°, y 14.4°; con una tolerancia para los ángulos de difracción de 0.2 grados.

Además, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un compuesto de fórmula I, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente

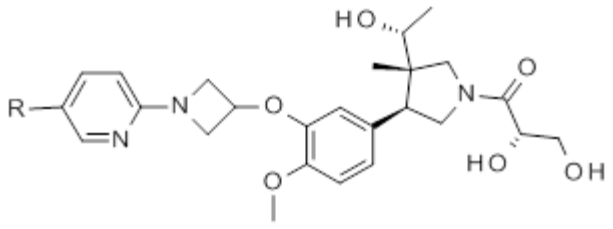
aceptable. En una modalidad particular, la composición farmacéutica además comprende uno o más de otros agentes terapéuticos tal como tadalafil. Como tal, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende un primer componente el cual es un compuesto de fórmula I, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, y un segundo componente el cual es tadalafil, y un portador, diluyente o excipiente farmacéuticamente aceptable.

Además, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en terapia.

Además, la presente invención proporciona un compuesto de fórmula I, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para uso en el tratamiento de vejiga hiperactiva.

Además, la presente invención proporciona el uso de un compuesto de fórmula I, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, para la manufactura de un medicamento para el tratamiento de vejiga hiperactiva.

Un compuesto particular de fórmula I es un compuesto de fórmula Ia



Ia

en donde R es hidrógeno o metilo, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

Un compuesto particular de fórmula Ia es uno en donde R es metilo, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

Un compuesto particular de fórmula Ia es (2S)-3-[(3S,4S)-3-[(1R)-1-hidroxietil]-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-1-il]-3-oxopropano-1,2-diol, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable.

Además, la presente invención proporciona un método para el tratamiento de vejiga hiperactiva, que comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad efectiva de un compuesto de fórmula Ia, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable. En una modalidad particular, la invención proporciona un método para el tratamiento de vejiga hiperactiva, que comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad efectiva de un primer componente el cual es un compuesto de fórmula Ia, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en combinación con una cantidad efectiva de un segundo componente el cual es tadalafil.

Además, la presente invención proporciona un compuesto de la invención para uso simultáneo, separado o secuencial en combinación con tadalafil en el tratamiento de

vejiga hiperactiva.

Además, la invención proporciona un método para el tratamiento de vejiga hiperactiva que comprende administrar a un paciente en necesidad del mismo una cantidad efectiva de (2S)-3-[(3S,4S)-3-[(1R)-1-hidroxietil]-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-1-il]-3-oxopropano-1,2-diol, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, en combinación con una cantidad efectiva de tadalafil.

Se entenderá que los compuestos de la presente invención pueden existir como estereoisómeros. Modalidades de la presente invención incluye todos enantiómeros, diastereómeros, y mezclas de los mismos. Modalidades preferidas son diastereómeros únicos, y más modalidades preferidas son enantiómeros únicos.

El término "sal farmacéuticamente aceptable" incluye una sal de adición de ácido que existe junto con la porción básica de un compuesto de fórmula I. Estas sales incluyen la sal farmacéuticamente aceptables, por ejemplo aquellas listadas en Handbook of Pharmaceutical Sales: Properties, Selection and Use, P. H. Stahl y C. G. Wermuth (Eds.), Wiley-VCH, New York, 2002 los cuales se conocen por el experto en la técnica.

Además de la sal farmacéuticamente aceptable, otras sales son contempladas en la invención. Pueden servir como

intermediarios en la purificación de compuestos o en la preparación de otras sales farmacéuticamente aceptables, o son útiles para identificación, caracterización o purificación de compuestos de la invención.

Como se usa en la presente, el término “paciente” se refiere a un animal de sangre caliente tal como un mamífero e incluye un humano. Un humano es un paciente preferido.

También se reconoce que un experto en la técnica puede tratar la vejiga hiperactiva administrando a un paciente que actualmente exhibe síntomas una cantidad efectiva del compuesto de fórmula I. En consecuencia, los términos “tratamiento” y “tratando” se planean para referirse a todos los procesos en donde puede existir una disminución, interrupción, detención, control o suspensión de un trastorno o síntomas existentes del mismo, pero no necesariamente indica una eliminación total de todos los síntomas.

También se reconoce que un experto en la técnica puede tratar la vejiga hiperactiva administrando a un paciente en riesgo de síntomas futuros una cantidad efectiva del compuesto de fórmula I y es planeado para incluir tratamiento profiláctico de este.

Como se usa en la presente, el término “cantidad efectiva” de un compuesto de fórmula I se refiere a una cantidad, que es una dosificación, la cual es efectiva en el

tratamiento de un trastorno, tal como vejiga hiperactiva descrito en la presente. El médico tratante, como un experto en la técnica, puede fácilmente determinar una cantidad efectiva por el uso de técnicas convencionales y observando resultados obtenidos bajo circunstancias análogas. En la determinación de una cantidad o dosis efectiva de un compuesto de fórmula I, se consideran un número de factores, incluyendo, pero no se limita al compuesto de fórmula I a ser administrada; la co-administración de otros agentes, si se usa; las especies de mamífero; su tamaño, edad y salud general; el grado de participación o la severidad del trastorno, tal como vejiga hiperactiva; la respuesta del paciente individual; la forma de administración; las características de biodisponibilidad de la preparación administrada; el régimen de dosis seleccionado; el uso de otra medicación concomitante; y otras circunstancias relevantes.

Un compuesto de fórmula I se puede usar en combinación con otros fármacos que se usan en el tratamiento/prevención/supresión o mejora de las enfermedades o condiciones para lo cual los compuestos de fórmula I son útiles, que incluye vejiga hiperactiva. Estos otros fármacos pueden ser administrados por una ruta y en una cantidad comúnmente usada por consiguiente, incluyendo contemporáneamente o secuencialmente con un compuesto de

fórmula I. Cuando se usa un compuesto de fórmula I contemporáneamente con uno o más de otros fármacos, se prefiere una forma de dosificación unitaria farmacéutica que contiene estos otros fármacos además al compuesto de fórmula I. Por lo tanto, las composiciones farmacéuticas de la presente invención incluyen aquellas que contienen uno o más de otros ingredientes activos además a un compuesto de fórmula I. Otros ingredientes activos efectivos en el tratamiento de vejiga hiperactiva los cuales pueden ser combinados con un compuesto de fórmula I, ya sea administrado separadamente o en el mismo farmacéutico incluye un inhibidor de PDE5 tal como tadalafil.

Los compuestos de la presente invención pueden ser administrados solos o en la forma de una composición farmacéutica combinada con portadores o excipientes farmacéuticamente aceptables, la proporción, y naturaleza de la cual son determinadas por la solubilidad y propiedades químicas, incluyendo estabilidad, del compuesto seleccionado, la ruta elegida de administración y práctica farmacéutica estándar. Los compuestos de la presente invención, mientras aunque son eficaces por sí mismos, pueden también ser formulados y administrados en la forma de sus sales farmacéuticamente aceptables para conveniencia de cristalización, solubilidad incrementada y similares.

Un experto en la técnica de preparación de

formulaciones puede fácilmente seleccionar la forma y manera apropiada de administración dependiendo de las características particulares del compuesto seleccionado, el trastorno o condición a ser tratada, la etapa del trastorno o condición, y otras circunstancias relevantes (Véase, por ejemplo Remington: The Science and Practice of Pharmacy, D.B. Troy, Editor, 21st Edition., Lippincott, Williams & Wilkins, 2006).

Ensayo *in vitro* de inhibición de PDE4

Los ensayos de fosfodiesterasa son realizados esencialmente de conformidad con el método descrito en Loughney, K., et al., *J. Biol. Chem.*, 271, pp. 796-806 (1996). Proteínas recombinantes humanas PDE4A, PDE4B, PDE4C, PDE4D, y PDE5 son expresadas y purificadas de *Saccharomyes cerevisiae* que carece de PDEs endógeno. Las enzimas de fosfodiesterasa son diluidas en hielo con amortiguador de dilución de enzima (25 mM de Tris, pH 7.5, 0.1 mM de DTT, 5.0 mM de $MgCl_2$, 100 mM de NaCl, 5 µM de $ZnSO_4$, 100 µg/mL de BSA) para dar aproximadamente 20%-40% de hidrólisis de monofosfato de nucleótido cíclico (cNMP) en la ausencia del inhibidor.

La solución base de compuestos de prueba son diluidos en la estación de trabajo Beckman BioMek™ 1000 para abarcar un intervalo de concentración de 4.5 log de unidades en 0.5 log de incrementos. La concentración de DMSO en el sistema de prueba final es 2.5% para todas las enzimas PDE.

La concentración del compuesto de prueba final probada varía de 0.03 nM a 1 µM.

El ensayo se realiza en un formato de placa microtituladora de 96 pozos en una estación robótica Beckman BioMek™ 1000. Cada fila de la placa representa un blanco (sin enzima) que contiene la curva de respuesta a la dosis de 10 puntos, control no inhibido y diluciones del inhibidor que abarca 4.5 log de unidades en concentración en 0.5 log de incrementos. Las soluciones base de ensayo se cargan en los reservorios Biomek (agua, diluyente del inhibidor [2.5% o 10% de DMSO], amortiguador de ensayo PDE 5X, sustrato, soluciones del inhibidor, soluciones de enzima, nucleotidasa de veneno de serpiente y suspensión de carbón). La reacción es iniciada con la enzima e incubada por 15 minutos a 30°C. Entonces se agregó un exceso de nucleotidasa de veneno de serpiente *Crotalus strox* (5 µl/pozo) y la mezcla se incubó por unos 3 minutos adicionales. La reacción se terminó por la adición de 200 µl de suspensión de carbón activado, después de lo cual la placa se centrifugó por 5 minutos a 750 x g. Se corrió un programa de transferencia en el cual 200 µl de lo sobrenadante se removió y se colocó en una nueva placa. La cantidad de radioactividad liberada como fosfato se determinó en un contador Wallac MicroBeta Plate™.

Los datos reducidos de cada concentración del inhibidor se analizó usando un modelo de respuesta a la dosis

logístico de cuatro, tres, o dos parámetros para proporcionar un valor IC_{50}. Para estas series de datos que exhiben >95% de inhibición en la concentración del inhibidor máxima, se usó un modelo de respuesta a la dosis logístico de cuatro parámetros.

En el ensayo anterior, los compuestos de los Ejemplos 1 y 2 exhiben un IC_{50} de menos que 10 nM en PDE4B. Más específicamente, el compuesto del Ejemplo 2 tienen un IC_{50} de 0.58 nM medido en PDE4B en el ensayo anterior. Estos datos demuestran que los compuestos del Ejemplo 1 y 2 son inhibidores de PDE4B.

Modelo *in vivo* de Vejiga Hiperactiva

El efecto *in vivo* de inhibidores PDE4B en OAB es estudiado con un modelo de ratón con vejiga hiperactiva inducida por ciclofosfamida (CYP) crónica adaptado de Boudes et al., *Neurourol. Urodynam*. 2011. En un estudio típico, se usaron ratones C57/B16 hembras, aproximadamente de 20 gramos de peso corporal (Harlan Laboratories, Inc., Indianapolis, Indiana). Los ratones se aleatorizaron por peso corporal en grupos un día antes del inicio del estudio. Los ratones son individualmente alojados y mantenidos en un ciclo de luz/oscuridad de 12 horas a 22°C con acceso *ad lib* a alimento (TD 2014 con 0.72% Ca y 0.61%P, 990 IU/g D3, Teklad™, Madison, WI) y aguar. Los animales recibieron ciclofosfamida (disuelta en salina fisiológica) administración i.p. a 100

mg/kg en los días 1, 3, 5, y 7 para crónicamente inducir OAB. El grupo de control del vehículo recibió diariamente el vehículo (HEC 1%/Tween 80 0.25%/Antiespuma 0.05%) administrado oralmente. Todos los otros grupos son administrados oralmente con tadalafil a 10mg/kg en combinación con 0.1, 1.0, o 10.0 mg/kg del compuesto de prueba diariamente a un volumen de 200 µl/ratón. En el día 8, los ratones son alojados en cámaras de recolección de orina con un papel filtro colocado debajo de la cámara. Antes de la recolección de orina, se proporcionó por sonda 1 ml de agua a cada ratón. La orina se recolectó de 6 pm a 10 pm (es decir, por 4 horas), se proporcionaron tazas de gel (DietGel™ 76A) como fuente de agua durante el periodo de 4 horas. El papel filtro se cambió cada hora. Se calcularon frecuencia de micción y volumen/vacío usando el software Image J (NIH). Los datos son estadísticamente analizados con el software JMP8® (Cary, N.C.).

Los animales desarrollaron OAB después de 8 días siguiendo del tratamiento CYP como se demostró por el incrementó de frecuencia urinaria (falso: 6.66 ± 0.91 contra vehículo: 16.5 ± 1.65 número de micción/periodo de 4 horas) y volumen/vacío disminuido (falso: 173.36 ± 38.39 mL contra vehículo: 31.93 ± 4.16 mL). Todos los grupos de tratamiento recibieron una dosis fija de 10 mg/kg de tadalafil. A esta dosis, el tadalafil no tiene actividad significante en ya sea

la frecuencia urinaria o volumen por vacío. Siguiendo el protocolo esencialmente como se describe anteriormente, el compuesto del Ejemplo 2 proporcionado con tadalafil reduce significativamente la frecuencia urinaria en una forma dependiente de la dosis Tabla 1). Además, también se observa el incremento del volumen/vacío en una forma dependiente de la dosis (Tabla 2). Esto demuestra que un compuesto del Ejemplo 2 en combinación con tadalafil es activo en un modelo animal de vejiga hiperactiva.

Tabla 1

Tratamiento	Frecuencia de micción media(no./4hr)	Error estándar	valor p contra Vehículo*
Vehículo	16.5	1.6583	
Ejemplo 2 0.1 mg/kg + tadalafil 10 mg/kg	10	0.9587	0.0057
Ejemplo 2 1.0 mg/kg + tadalafil 10 mg/kg	8.61	0.7633	0.0003
Ejemplo 2 10.0 mg/kg + tadalafil 10 mg/kg	8.38	1.2049	0.0000

*$p<0.05$ es estadísticamente significante; $p<0.001$ es estadísticamente muy significante; valores p computados

con base en el modelo ANOVA para la trasformación de raíz cuadrada de un número de puntos en 4 horas; los valores p ajustados para múltiples comparaciones al vehículo usando corrección de Dunnett.

Tabla 2

Tratamiento	Volumen/Vacío Medio (mL)	Error estándar	p valor contra Vehículo*
Vehículo	31.93	4.1635	
Ejemplo 2 0.1 mg/kg + tadalafil 10 mg/kg	47.30	6.3428	0.29619
Ejemplo 2 1.0 mg/kg + tadalafil 10 mg/kg	77.15	5.6815	0.00003
Ejemplo 2 10.0 mg/kg + tadalafil 10 mg/kg	81.93	10.0205	0.00007

*$p<0.05$ es estadísticamente significante; $p<0.001$ es estadísticamente muy significante; valores p computados en base al modelo ANOVA para el logaritmo de volumen de puntos de orina; valores p ajustados para múltiples comparaciones al vehículo usando la corrección de Dunnett.

Los compuestos de fórmula I pueden ser preparados por procesos conocidos en las técnicas químicas o por un

nuevo proceso descrito en la presente. Un proceso para la preparación de un compuesto de fórmula I, o una sal del mismo farmacéuticamente aceptable, y nuevos intermediarios para la manufactura de un compuesto de fórmula I, se proporcionan además características de la invención y son ilustradas por los siguientes procedimientos en los cuales el significado de sustituyente, R es como se define anteriormente, a menos que se especifique de otra manera.

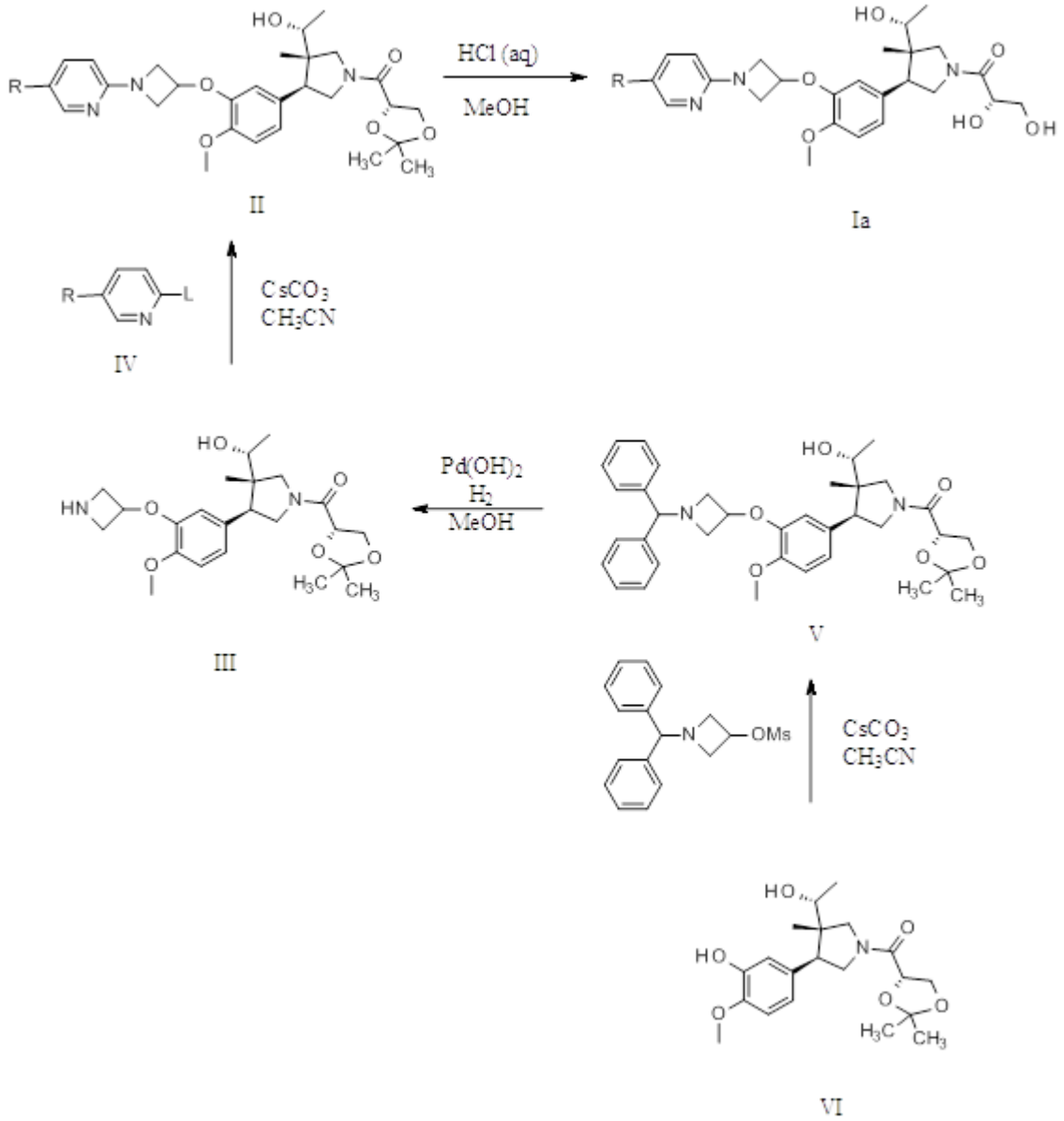
Generalmente, un compuesto de fórmula Ia donde R es hidrógeno o metilo puede ser preparado a partir de un compuesto de fórmula II donde el grupo 1,2-diol es protegido con un grupo adecuado tal como acetónido (Esquema de reacción 1). Más específicamente, un compuesto de fórmula II se hace reaccionar con un ácido tal como ácido clorhídrico acuoso o ácido acético en un solvente adecuado para proporcionar un compuesto de fórmula Ia. Solventes adecuados incluyen agua, metanol y acetonitrilo. Un compuesto de fórmula II donde R es hidrógeno o metilo puede ser preparado haciendo reaccionar un compuesto de fórmula III con un compuesto de fórmula IV donde L representa un grupo saliente adecuado tal como fluoro o cloro en la presencia de una base adecuada. Bases adecuadas incluyen carbonato de potasio y carbonato de cesio. La reacción es convenientemente llevada a cabo en un solvente tal como N-metil-2-pirrolidona o acetonitrilo.

Un compuesto de fórmula III puede ser preparado a

partir de un compuesto de fórmula V donde la azetidin amina es protegida con un grupo adecuado tal como difenilmetilo. Más específicamente, un compuesto de fórmula V se hace reaccionar con gas hidrógeno en la presencia de catalizador adecuado tal como paladio en carbono para proporcionar un compuesto de fórmula III. La reacción es convenientemente llevada a cabo en un solvente tal como metanol o etanol.

Un compuesto de fórmula V puede ser preparado haciendo reaccionar un compuesto de fórmula VI con metansulfonato de 1-(difenilmetil)azetidin-3-ilo en la presencia de una base adecuada. Bases adecuadas incluyen carbonato de potasio y carbonato de cesio. La reacción es convenientemente llevada a cabo en un solvente apropiado tal como acetonitrilo.

Esquema de reacción 1

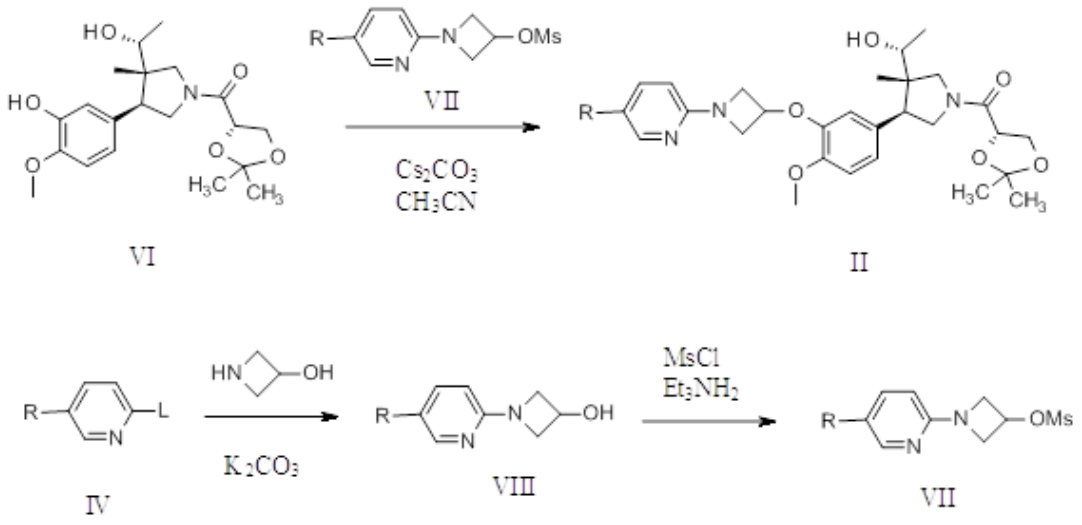


Alternativamente, un compuesto de fórmula II puede ser preparado directamente a partir de un compuesto de fórmula VI (Esquema de reacción 2). Más específicamente, un compuesto de fórmula VI se hace reaccionar con un compuesto de fórmula VII donde R es hidrógeno o metilo y OMs representa el grupo saliente metansulfonilo en la presencia de una base

adecuada tal como carbonato de cesio. La reacción es convenientemente llevada a cabo en un solvente apropiado tal como acetonitrilo.

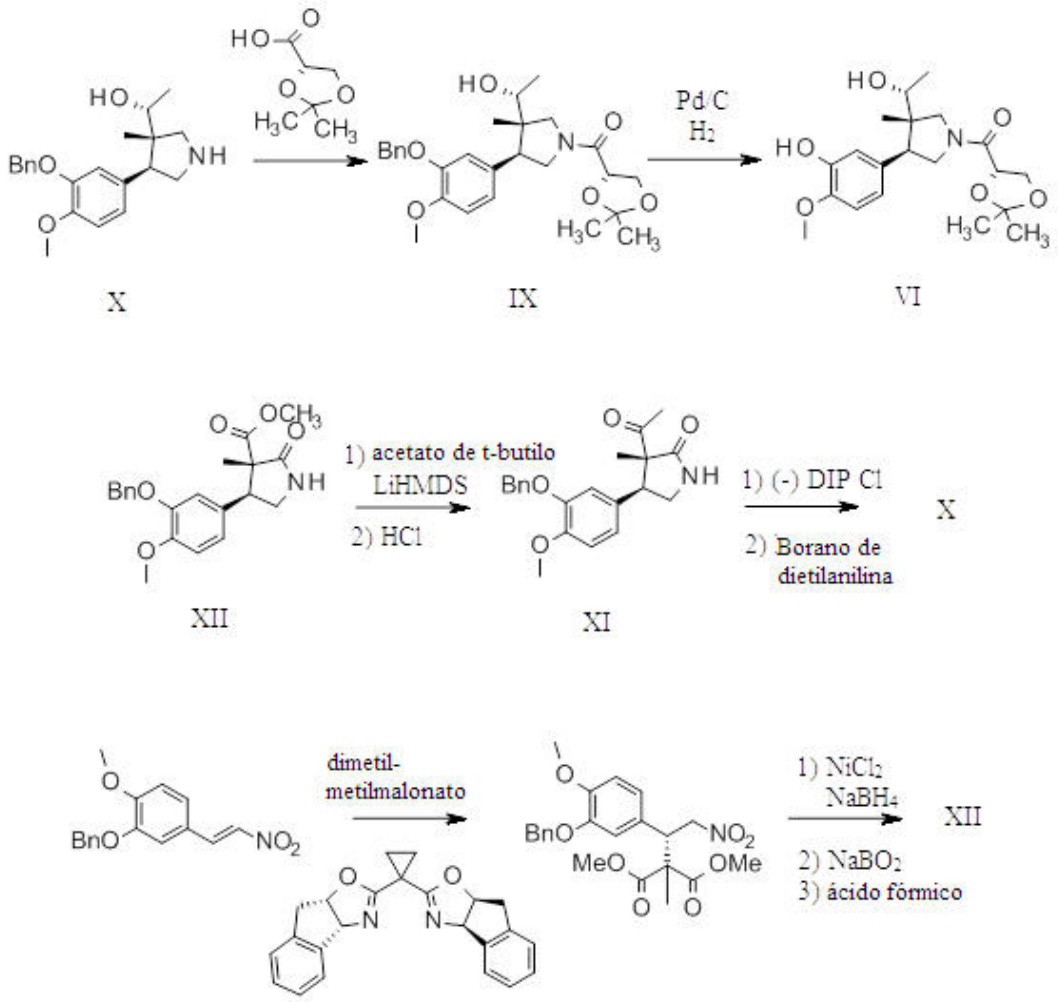
Un compuesto de fórmula VII puede ser preparado haciendo reaccionar un compuesto de fórmula VIII con cloruro de metansulfonilo en la presencia de una base tal como trietilamina. La reacción es convenientemente llevada a cabo en un solvente adecuado tal como cloruro de metileno. Un compuesto de fórmula VIII donde R es hidrógeno o metilo puede ser preparado haciendo reaccionar un compuesto de fórmula IV donde L representa un grupo saliente adecuado tal como fluoro o cloro con 3-hidroxi azetidina en la presencia de una base adecuada. Bases adecuadas incluyen carbonato de potasio. La reacción es convenientemente llevada a cabo en un solvente adecuado.

Esquema de reacción 2



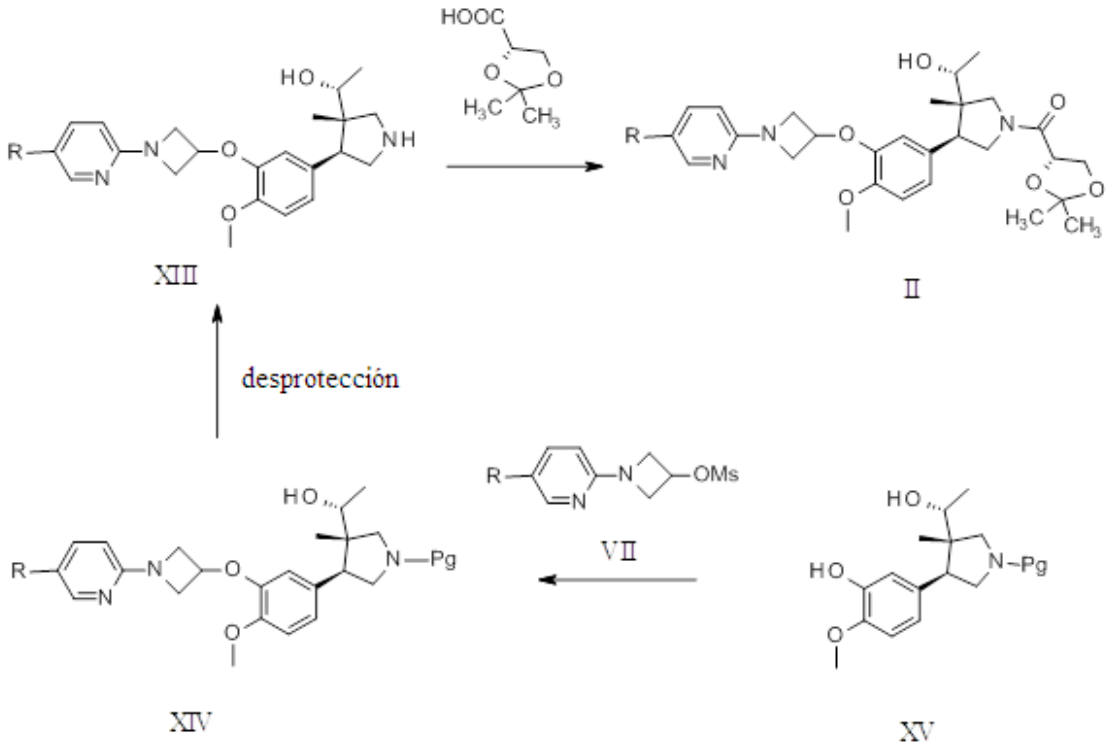
Un compuesto de fórmula VI puede ser preparado por procedimientos apreciados por uno de experiencia ordinaria en la técnica que incluye aquellos descritos en la Publicación de Solicitud Internacional No. WO 01/47905, así como también aquellos descritos en el Esquema de reacción 3 en revisión de Nichols, P. J.; DeMattei, J. A.; Barnett, B. R.; LeFur, N. A.; Chuang, T.; Piscopio, A. D.; Kock, K. *Org. Lett.* **2006**, 8, 1495-1498.

Esquema de reacción 3



Alternativamente, un compuesto de fórmula II puede ser preparado a partir de un compuesto de fórmula XIII (Esquema de reacción 4). Más específicamente, un compuesto de fórmula XIII se hace reaccionar bajo condiciones de acilación con ácido (S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolane-4-carboxílico para proporcionar un compuesto de fórmula II. Un compuesto de fórmula XIII puede ser preparado desprotegiendo un compuesto de fórmula XIV donde Pg representa un grupo protector amina adecuado. Grupos protectores amina adecuados incluyen t-butiloxicarbonilo (t-BOC). Un compuesto de fórmula XIV donde Pg representa un grupo protector amina adecuado puede ser preparado a partir de un compuesto de fórmula XV. Más específicamente, un compuesto de fórmula XV se hace reaccionar con un compuesto de fórmula VII donde R es hidrógeno o metilo y OMs representa el grupo saliente de metansulfonilo en la presencia de una base adecuada tal como n-hidrato fosfato de potasio tribásico. La reacción es convenientemente llevada a cabo en un solvente apropiado tal como dimetilformamida. Un compuesto de fórmula XV puede ser preparado a partir de un compuesto de fórmula X como se describe en las Preparaciones y Ejemplos.

Esquema de reacción 4

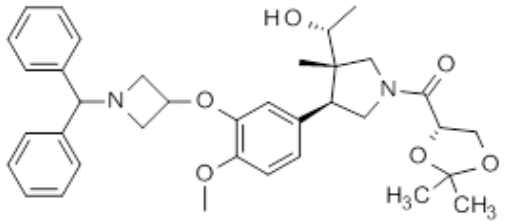


Como se usa en la presente, "DMSO" se refiere a dimetilsulfóxido; "Tris" se refiere a trishidroximetilaminometano; "DTT" se refiere a ditiotreitol; "HEC" se refiere a hidroxietil celulosa; y "IC_{50}" se refiere a la concentración de un agente que produces 50% de la respuesta inhibitoria máxima posible para el agente.

Se reconoce en el campo de química orgánica que uno o más nombres químicos pueden ser derivados para una estructura química. Pueden estar presentes nombres alternativos en los Ejemplos y Preparaciones.

Preparación 1

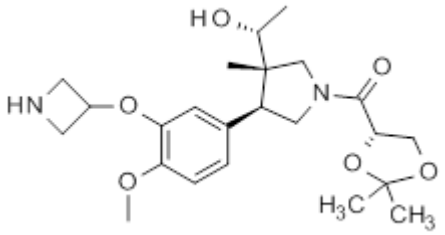
Síntesis de (1R)-1-[(3S,4S)-1-{[(4S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il]carbonil}-4-(3-{[1-(difenilmetil)azetidin-3-il]oxi}-4-metoxifenil)-3-metilpirrolidin-3-il]etanol.



A una suspensión de (1R)-1-[(3S,4S)-1-{[(4S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il]carbonil}-4-(4-metoxi-3-hidroxifenil)-3-metilpirrolidin-3-il]etanol (2.0 g) y carbonato de potasio (1.46 g) en acetonitrilo (30 mL) se agregó metansulfonato de 1-(difenilmetil)azetidin-3-ilo (2.51 g). La mezcla se calentó a 80°C durante la noche. Se enfrió la mezcla de reacción y se vertió en acetato de etilo (100 mL), se lavó con agua (40 mL) y salmuera (40 mL), se secó sobre sulfato de sodio, se filtró y evaporó lo filtrado a sequedad. Se purificó el residuo resultante (gel de sílice, 60% de acetato de etilo/hexanos a acetato de etilo) para proporcionar 0.6 g del compuesto del título. MS (ES+) = 601 (M+1).

Preparación 2

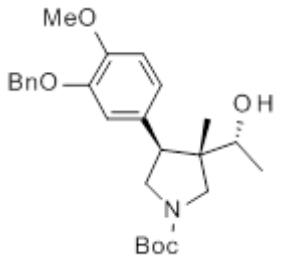
Síntesis de (1R)-1-[(3S,4S)-1-{[(4S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il]carbonil}-4-(4-metoxi-3-{[1-(azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-3-il]etanol.



A un recipiente Parr™ que contiene una solución de (1R)-1-[(3S,4S)-1-{[(4S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il]carbonil}-4-(3-{[1-(difenilmetil)azetidin-3-il]oxi}-4-metoxifenil)-3-metilpirrolidin-3-il]etanol (0.6 g) en metanol (20 mL) se agregó hidróxido de paladio en carbono (60 mg, 20% en peso de Pd en base seca C). La suspensión se hidrogenó a 30 psig de gas hidrógeno hasta que la recuperación de gas hidrógeno terminó. La mezcla de reacción se filtró a través de Celite™ y lo filtrado se evaporó para proporcionar el compuesto del título (0.4 g). MS (ES+) = 435 (M+1).

Preparación 3

Síntesis de (3S,4S)-4-(3-(benciloxi)-4-metoxifenil)-3-((R)-1-hidroxietil)-3-metilpirrolidin-1-carboxilato de terc-butilo.

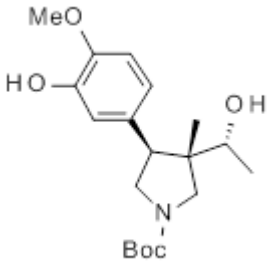


Se agregó trietilamina (0.6 g, 5.93 mmol) a (R)-1-((3S,4S)-4-(3-(benciloxi)-4-metoxifenil)-3-metilpirrolidin-3-il)etan-1-ol (20.0 g, 58.57 mmol) en acetato de etilo (200 mL). Se enfrió la reacción a 0-5 °C. Se agregó dicarbonato de di-terc-butilo (13.45 g, 61.63 mmol) en metanol (60 mL) a la reacción, mientras se mantiene la temperatura de reacción entre 0-5 °C. Se calentó la reacción a 15-20 °C y se agitó por 2 horas. Se agregó agua (200 mL) y se separaron las capas. Se extrajo nuevamente la capa acuosa con acetato de etilo (100 mL). Se combinaron las capas orgánicas y se lavaron con agua (100 mL). Se concentró la capa orgánica a 2 volúmenes. Se agregó n-heptano (200 mL) y se agitó a 15-20 °C por 16 horas. Se filtró la suspensión y se lavó la torta con n-heptano. Se secó la torta bajo vacío por debajo de 50 °C para dar el compuesto del título (22.0 g, 49.92 mmol): ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 0.58 (d, *J* = 8.8 Hz, 3H), 1.02 (m, 3H), 1.06 (m, 1H), 1.48 (s, 9H), 3.16(m, 2H), 3.58 (m, 4H), 3.91 (s, 3H), 5.24(m, 2H), 6.78 (m, 3H), 7.36 (m, 5H); y ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ (ppm) 17.5, 17.6, 19.7, 19.8, 28.8, 45.7, 46.3, 48.4, 48.7, 49.1, 52.4, 52.9, 56.2, 69.1, 71.1, 71.2, 79.5, 111.6, 116.1,

116.3, 121.4, 127.4, 128.0, 128.8, 129.8, 137.8, 147.4, 148.8, 155.2, 155.3. Se observó isomerización rotacional en el espectro 1H y 13C, lo cual causa duplicación de picos relevantes.

Preparación 4

Síntesis de (3S,4S)-3-[(1R)-1-hidroxietil]-4-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-3-metilpirrolidin-1-carboxilato de terc-butilo.

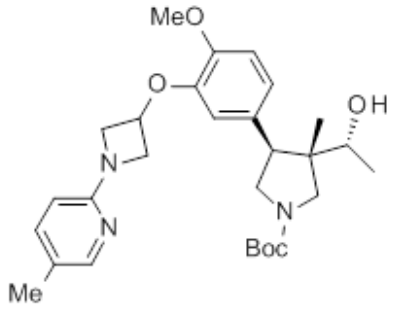


Se agregó hidróxido de paladio (0.26 g, 1.85 mmol) a la solución de reacción que contiene (3S,4S)-4-(3-(benciloxi)-4-metoxifenil)-3-((R)-1-hidroxietil)-3-metilpirrolidin-1-carboxilato de terc-butilo (5.0 g, 11.32) en metanol (50 mL) y se vació la reacción para obtener una atmósfera de hidrógeno de 138 - 207 kPa a 15-20 °C. Después de dos horas, se filtró la reacción a través de tierra diatomácea. Se lavó la torta filtrada con metanol (10 mL), y se concentró la capa orgánica a 1-2 volúmenes. Se agregó MTBE (25 mL), y se concentró lo orgánico a 1-2 volúmenes. Se agregó MTBE adicional (25 mL), y se concentró la capa orgánica a 1-2 volúmenes. Se agregó n-heptano (50 mL) a la

solución, y se agitó por dieciséis horas a 5-10 °C. Se filtró la suspensión, y se lavó la torta con n-heptanos. Se secó la torta bajo vacío por debajo de 50 °C para dar el compuesto del título (3.9 g, 11.10 mmol): ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 0.76 (s, 3H), 1.11 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H), 1.48 (s, 9H), 3.24 (m, 2H), 3.60 (m, 5H), 3.88 (s, 3H), 5.62 (brs, 1H), 6.78 (m, 2H), 6.86 (s, 1H); y ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ (ppm) 17.6, 17.7, 19.6, 19.7, 28.8, 45.9, 46.1, 46.5, 48.5, 49.1, 49.2, 49.6, 52.7, 53.2, 56.2, 69.3, 79.5, 110.6, 110.7, 115.5, 115.7, 120.6, 120.8, 130.7, 145.5, 145.8, 155.3, 155.4. Se observó isomerización rotacional en el espectro 1H y 13C, lo cual causa duplicación de picos relevantes.

Preparación 5

Síntesis de (3S,4S)-3-((R)-1-hidroxietil)-4-(4-metoxi-3-((1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il)oxi)fenil)-3-metilpirrolidin-1-carboxilato de terc-butilo.

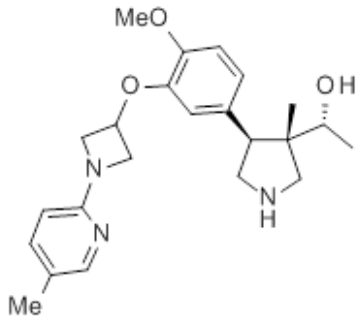


Se agregó n-hidrato fosfato de potasio tribásico (238.1 g, 1.12 mol) a una solución de (3S,4S)-3-[(1R)-1-hidroxietil]-4-(3-hidroxi-4-metoxifenil)-3-metilpirrolidin-1-

carboxilato de terc-butilo (100 g, 274.3 mmol) en dimetilformamida (700 mL). Se calentó la mezcla resultante a 90-95 °C. Se agregó una solución de metansulfonato de 1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-ilo (73.3 g, 289.81 mmol) en dimetilformamida (30 mL) por goteo a la mezcla de reacción. Después de que la adición se completó, se agitó la mezcla a 90-100 °C. Después de dieciséis horas, se enfrió la reacción a 15-25 °C y se agregó acetato de etilo (2500 mL) y agua (2500 mL). Se separaron las capas y se extrajo nuevamente la capa acuosa con acetato de etilo (2500 mL). Se combinaron las capas orgánicas, se lavaron con 12% de salmuera (2500 mL, 2x) y se concentró la capa orgánica bajo vacío por debajo de 50 °C a 2-3 volúmenes. Se agregó tetrahidrofurano (300 mL) y se concentró bajo vacío por debajo de 50 ° a 2-3 volúmenes. Se agregó tetrahidrofurano (300 mL) y se concentró bajo vacío por debajo de 50 °C a 2 volúmenes. Se agregó tetrahidrofurano (600 mL) para dar el compuesto del título (765.7 g, 264.65 mmol) como una solución en tetrahidrofurano, el cual se usó sin purificación adicional en la subsecuente reacción.

Preparación 6

Síntesis de (R)-1-((3S,4S)-4-(4-metoxi-3-((1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il)oxi)fenil)-3-metilpirrolidin-3-il)etan-1-ol.

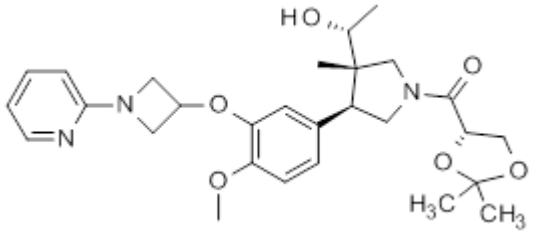


Se agregó HCl concentrado (44 mL, 535.92 mmol, 12.18 M) a una solución 15-20 °C de (3S,4S)-3-((R)-1-hidroxietil)-4-(4-metoxi-3-((1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il)oxi)fenil)-3-metilpirrolidin-1-carboxilato de terc-butilo (22.0 g, 44.21 mmol) en tetrahidrofurano (88 mL). Después de que la adición se completó, se calentó la solución a 30-35 °C. Después de cuatro horas, se agregó 10% de carbonato de sodio acuoso para ajustar el pH a 8-9. Se concentró la reacción hasta que todo el tetrahidrofurano ha sido removido. Se agregó diclorometano (440 mL) y se separaron las capas. Se lavó la capa orgánica con agua (220 mL). Se concentró la capa orgánica para obtener el compuesto del título (17.0 g, 42.77 mmol): ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 0.75(s, 3H), 1.17 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H), 2.15 (s, 3H), 3.18 (d, *J* = 11.6 Hz, 1H), 3.47 (s, 2H), 3.65 (m, 2H), 3.79 (m, 6H), 4.07 (m, 2H), 4.50 (m, 2H), 5.10 (t, *J* = 5.2 Hz, 1H), 6.27 (d, *J* =8.4 Hz, 1H), 6.65 (s, 1H), 6.80 (s, 2H), 7.29 (m, 1H), 7.88 (s, 1H); y ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ (ppm) 17.3, 17.8, 19.3, 46.8, 48.0, 49.6, 50.3, 51.1, 55.7, 58.0, 67.5, 68.8, 106.3, 111.5, 114.3,

121.5, 122.0, 128.0, 138.5, 145.9, 146.8, 148.5, 158.6.

Preparación 7

Síntesis de (1R)-1-[(3S,4S)-1-{[(4S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il]carbonil}-4-(4-metoxi-3-{[1-piridin-2-ilazetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-3-il]etanol.

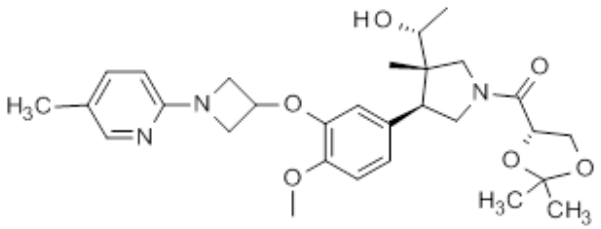


Una mezcla de (1R)-1-[(3S,4S)-1-{[(4S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il]carbonil}-4-(4-metoxi-3-{[1-(azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-3-il]etanol (50 mg), 2-fluoropiridina (11.8 mg) y carbonato de potasio (31.8 mg) en N-metil-2-pirrolidona (3 mL) se calentó a 120° C durante la noche. La reacción se enfrió, se vertió en cloruro de metileno (40 mL), y se lavó con agua (10 mL). La capa orgánica se secó sobre sulfato de sodio y se evaporó a 3 mL. Se agregó acetonitrilo y la solución del producto crudo se purificó por cromatografía de fase inversa (5% hasta 95% de acetonitrilo/agua). Las fracciones apropiadas se recolectaron y evaporaron para proporcionar el compuesto del título (22.1 mg). MS (ES+) = 512 (M+1).

Preparación 8

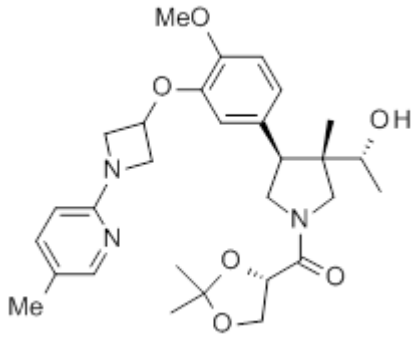
Síntesis de (1R)-1-[(3S,4S)-1-{[(4S)-2,2-dimetil-

1,3-dioxolan-4-il]carbonil}-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-3-il]etanol.



El compuesto del título se preparó esencialmente por el método de Preparación 7 usando 2-cloro-5-metilpiridina. MS(ES+) = 526 (M+1).

Síntesis alternativa de (1R)-1-[(3S,4S)-1-{[(4S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il]carbonil}-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-3-il]etanol.



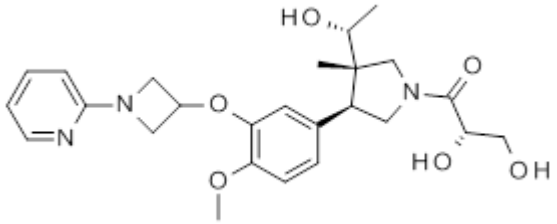
Se agregó (S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-carboxilato de potasio (165 g, 891.13 mmol) a una solución de (R)-1-((3S,4S)-4-(4-metoxi-3-((1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il)oxi)fenil)-3-metilpirrolidin-3-il)etan-1-ol (300 g, 754.68 mmol), dimetilformamida (3000 mL), acetato de

etilo (1500 mL) y N-metilmorfolina (375 g, 3.71 mol). Se enfrió la mezcla a 0-10 °C y se agitó por treinta minutos. Se agregó a 50 % en peso de la solución de anhídrido cíclico del ácido 1-propanfosfónico (675 g, 1.06 moles, 551.92 mL) en acetato de etilo a una velocidad de adición para mantener la temperatura interna entre 0-10 °C. Después de la agitación a 0-10 °C por treinta minutos, se calentó la mezcla a 10-20 °C. Después de una hora, se agregó agua (6.0 L) y acetato de etilo (4.5 L). Se separaron las capas y se extrajo nuevamente la capa acuosa con acetato de etilo (3.0 L). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con agua (3.0 L) y se concentraron a 3 volúmenes. Se agregó acetato de isopropilo (1.5 L) y se concentró lo orgánico a 3 volúmenes. Se agregó acetato de isopropilo (1.5 L) y se agitó por veinte horas a 15-20 °C. Se filtró la suspensión y se secó lo sólido bajo vacío para proporcionar el compuesto del título (290.0 g, 551.7 mmol): ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 0.76 (s, 3H), 1.20 (d, *J* = 6.4 Hz, 3H), 1.45 (m, 6H), 2.20 (s, 3H), 3.75 (m, 3H), 3.85 (m, 6H), 4.20 (m, 4H), 4.42 (m, 3H), 4.68 (m, 1H), 5.10 (m, 1H), 6.30 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.65 (d, *J* = 12.8 Hz, 1H), 6.85 (d, *J* = 2.4 Hz, 2H), 7.30 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 7.98(s, 1H); y ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ (ppm) 16.9, 17.4, 17.5, 19.6, 21.7, 25.5, 25.6, 25.8, 44.6, 46.3, 47.0, 48.8, 49.3, 49.6, 52.6, 53.0, 55.8, 58.0, 66.4, 67.8, 68.5, 74.1, 74.2, 106.0, 110.6, 111.5, 114.7, 115.0, 121.6, 121.7, 122.1, 122.2, 129.0, 129.6, 138.2, 145.8,

147.5, 147.6, 148.3, 148.4, 158.9, 168.2, 168.4. Se observó isomerización rotacional en el espectro 1H y 13C, lo cual causa duplicación de picos relevantes.

Ejemplo 1

Síntesis de (2S)-3-[(3S,4S)-3-[(1R)-1-hidroxietil]-4-{4-metoxi-3-[(1-piridin-2-ilazetidin-3-il)oxi]fenil}-3-metilpirrolidin-1-il]-3-oxopropano-1,2-diol.

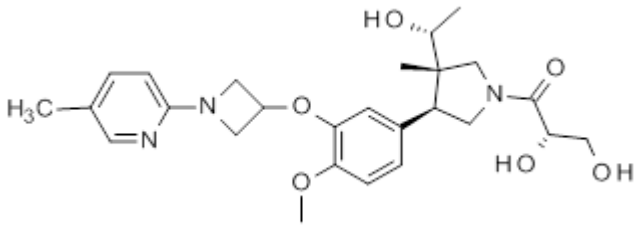


A una solución de (1R)-1-[(3S,4S)-1-{[(4S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il]carbonil}-4-(4-metoxi-3-{[1-piridin-2-ilazetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-3-il]etanol (22.1 mg) en tetrahidrofurano (2 mL) se agregó HCl acuoso 1.0 M (1 mL). Se agitó durante la noche a temperatura ambiente. Se agregó HCl acuoso 1.0 M (1 mL) y se agitó por 8 horas adicionales. Se neutralizó con NaOH acuoso 1.0 M, se extrajo con acetato de etilo, se secó y se evaporó para proporcionar el compuesto del título (18.2 mg). MS(ES+) = 472 (M+1).

Ejemplo 2

Síntesis de (2S)-3-[(3S,4S)-3-[(1R)-1-hidroxietil]-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-

il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-1-il]-3-oxopropano-1,2-diol.

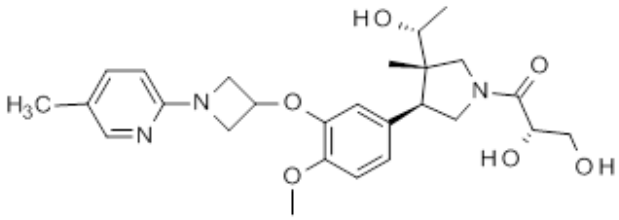


El compuesto del título se preparó esencialmente por el método de Ejemplo 1. MS(ES+) = 486 (M+1).

Ejemplo 3

Preparación de (2S)-3-[(3S,4S)-3-[(1R)-1-hidroxietil]-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-1-il]-3-oxopropano-1,2-diol cristalino.

Un nombre alternativo de (2S)-3-[(3S,4S)-3-[(1R)-1-hidroxietil]-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-1-il]-3-oxopropano-1,2-diol es (S)-2,3-dihidroxi-1-((3S,4S)-3-((R)-1-hidroxietil)-4-(4-metoxi-3-((1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il)oxi)fenil)-3-metilpirrolidin-1-il)propan-1-ona.



Se agregó (1R)-1-[(3S,4S)-1-{[(4S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il]carbonil}-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-3-il]etanol (20

g, 38.05 mmol) a una solución a 5-10 °C de ácido clorhídrico 1N (120 mL, 120.0 mmol). Se calentó la solución a 20-25 °C y se agitó por tres horas. Se agregó diclorometano (400 mL) y se separaron las capas resultantes. Se agregó diclorometano (400 mL) a la capa acuosa y se ajustó el pH a 7-8 con 7% de bicarbonato de sodio acuoso. Se separaron las capas y se extrajo nuevamente la capa acuosa con diclorometano (200 mL). Se lavaron las capas orgánicas combinadas con agua (100 mL). Se concentró la capa orgánica a sequedad. Se agregó etanol (8 mL) al compuesto del título (4.0g). Se agitó la mezcla por veinte horas a 15-20 °C. Se filtró la suspensión y se secó la torta húmeda bajo vacío para dar el compuesto del título como un sólido cristalino (3.5 g).

Preparación alternativa de (2S)-3-[(3S,4S)-3-[(1R)-1-hidroxietil]-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-1-il]-3-oxopropano-1,2-diol cristalino.

Se agregó ácido clorhídrico 1N (1800 mL, 1.8 mol) a (1R)-1-[(3S,4S)-1-{[(4S)-2,2-dimetil-1,3-dioxolan-4-il]carbonil}-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-3-il]etanol (290 g, 551.7 mmol) a 20-25 °C. Después de la agitación por tres horas, se agregó diclorometano (5800 mL) y 10% de carbonato de sodio acuoso para ajustar el pH a 7-8. Se agregó etanol (1450 mL) y se agitó la mezcla por treinta minutos. Se separaron las

capas y se lavó la capa orgánica con agua (2900 mL). Se concentró lo orgánico a 2-3 volúmenes. Se agregó etanol (1450 mL) y se concentró lo orgánico a 2-3 volúmenes. Se agregó etanol (580 mL) y se enfrió la reacción a 15-20 °C. Se agregaron cristales sembrados del compuesto del título (0.1g) y se agitó la mezcla por veinte-cuatro horas. Se filtró la suspensión y se lavó la torta con etanol (290 mL). Se secó la torta bajo vacío a 55-60°C por cuarenta horas para proporcionar el compuesto del título (240.0 g, 494.25 mmol): ^{1}H NMR ($CDCl_3$) δ 0.73 (m, 3H), 1.19 (d, *J* = 6.0 Hz, 3H), 1.8(brs, 3H), 2.20 (s, 3H), 3.31 (m, 1H), 3.53 (m, 1H), 3.85 (m, 9H), 4.38 (m, 2H), 4.42 (m, 3H), 5.07 (m, 1H), 6.32 (d, *J* = 8.4 Hz, 1H), 6.68 (d, *J* = 6.0 Hz, 1H), 6.84 (m, 2H), 7.33 (m, 1H), 8.02 (m, 1H); y ^{13}C-NMR ($CDCl_3$) δ (ppm) 17.0, 17.5, 17.6, 19.6, 44.5, 47.4, 48.8, 49.3, 52.7, 55.9, 57.7, 58.2, 64.0, 64.1, 67.5, 67.6, 67.7, 70.5, 71.3, 106.2, 111.3, 111.4, 115.1, 120.7, 122.1, 128.7, 138.5, 138.7, 145.7, 147.3, 148.1, 158.5, 170.9. Se observó isomerización rotacional en el espectro 1H y 13C, lo cual causa duplicación de picos relevantes.

Difracción en Polvo de Rayos X

Se obtuvieron los patrones XRD de sólidos cristalinos en un difractómetro en polvo de rayos X Bruker D4 Endeavor, equipado con una fuente de CuKa λ = 1.54060 Å) y un detector Vantec, que opera a 35 kV y 50 mA. La muestra es

barrida entre 4 y 40° en 2θ, con un tamaño de etapa de 0.009° en 2θ y una velocidad de barrido de 0.5 segundos/etapa, y con 0.6 mm de divergencia, 5.28 anti-dispersión fijado, y 9.5 mm de aberturas detectoras. El polvo seco se empaquetó en un recipiente de muestra de cuarzo y se obtuvo una superficie lisa usando un portaobjeto de vidrio. Los patrones de difracción de la forma cristalina se recolectaron a temperatura ambiente y humedad relativa. Es bien conocido en la técnica de cristalografía que, para una forma cristalina dada, las intensidades relativas de los picos de difracción pueden variar debido a la orientación preferida resultando de factores tal como morfología y hábito del cristal. En donde los efectos de la orientación preferida están presentes, se alteran las intensidades del pico, pero las posiciones del pico características del polimorfo están sin cabio. Véase, por ejemplo The United States Pharmacopeia #23, National Formulary #18, páginas 1843-1844, 1995. Además, es también bien conocido en la técnica de cristalografía que para cualquier forma cristalina proporcionada, las posiciones de pico angular pueden variar ligeramente. Por ejemplo, las posiciones del pico pueden cambiar debido a una variación en la temperatura o humedad en la cual una muestra es analizada, desplazamiento de muestra o la presencia o ausencia de un estándar interno. En el presente caso, una viabilidad en la posición del pico de ± 0.2 en 2θ podrá tomar en cuenta estas

potenciales variaciones sin obstaculizar la identificación inequívoca de la forma cristalina indicada. La confirmación de una forma cristalina puede ser hecha en base a cualquier combinación única de picos distinguibles (en unidades de ° 2θ), típicamente los picos más prominentes. Los patrones de difracción de la forma cristalina, recolectados a temperatura ambiente y humedad relativa, se ajustaron en base a picos estándar NIST 675 a 8.853 y 26.774 grados 2-teta.

Una muestra de (2S)-3-[(3S,4S)-3-[(1R)-1-hidroxietil]-4-(4-metoxi-3-{[1-(5-metilpiridin-2-il)azetidin-3-il]oxi}fenil)-3-metilpirrolidin-1-il]-3-oxopropano-1,2-diol es caracterizada por un patrón XRD usando radiación de CuKa por tener picos de difracción (valores 2-teta) como se describe en la Tabla 3 debajo, y en particular por tener picos a 18.5° en combinación con uno o más de los picos seleccionados del grupo que consiste de 16.2°, 20.2°, y 14.4°; con una tolerancia para los ángulos de difracción de 0.2 grados.

Tabla 3

	Ejemplo 3 Posiciones del Pico	
Pico	Ángulo° (°2-Teta) +/- 0.2°	Intensidad Relativa (% del pico más intenso)
1	13.1	21.9
2	24.1	22.0
3	25.0	27.0
4	22.3	30.3
5	20.7	32.0
6	19.0	45.2
7	14.4	46.3
8	20.2	50.0
9	16.2	86.5
10	18.5	100.0