

**METODOLOGÍA SINTÉTICA**  
**APLICADA A LA SÍNTESIS DE**  
**FÁRMACOS**

**MIGUEL CARDA**



**Tema 6-II**  
**Fármacos contra la hepatitis C**

**Miguel Carda**



## **Tema 6-I. Enfermedades víricas: fármacos contra la hepatitis C**

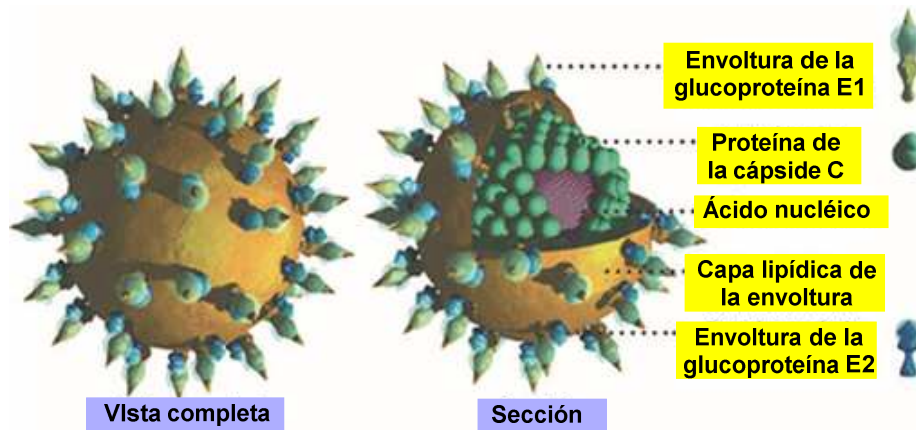
<b>6-I.1. Hepatitis C</b>	<b>1</b>
<b>6-I.2. El ciclo de vida del virus de la hepatitis C</b>	<b>2</b>
<b>6-I.3. Dianas farmacológicas de los nuevos fármacos contra VHC</b>	<b>3</b>
<b>6-I.4. Interferones</b>	<b>4</b>
<b>6-I.5. Ribavirina</b>	<b>5</b>
<b>6-I.6. Síntesis de antivirales</b>	<b>6</b>
<b>6-I.6.1. Telaprevir</b>	<b>6</b>
<b>6-I.6.1.a. Análisis retrosintético</b>	<b>6</b>
<b>6-I.6.1.b.1. Síntesis del pirazino-ácido 6-I.1</b>	<b>7</b>
<b>6-I.6.1.b.2. Síntesis del hexahidrociclopentapirrol 6-I.2</b>	<b>8</b>
<b>6-I.6.1.b.3. Síntesis del isocianuro 6-I.3</b>	<b>8</b>
<b>6-I.6.1.b.4. Pasos finales</b>	<b>9</b>
<b>6-I.6.1.c. Cuestiones</b>	<b>9</b>
<b>6-I.6.2. Boceprevir</b>	<b>10</b>
<b>6-I.6.2.b.1. Síntesis de la carboxiurea 6-I.15</b>	<b>12</b>
<b>6-I.6.2.b.2. Síntesis de dimetilciclopropilprolinato de metilo 6-I.16</b>	<b>12</b>
<b>6-I.6.2.b.3. Síntesis de la aminohidroxiamida 6-I.17</b>	<b>14</b>
<b>6-I.6.2.b.4. Pasos finales</b>	<b>15</b>
<b>6-I.6.2.c. Cuestiones</b>	<b>16</b>
<b>6-I.6.3. Sofosbuvir</b>	<b>18</b>
<b>6-I.6.3.a. Análisis retrosintético</b>	<b>19</b>
<b>6-I.6.3.b.1. Síntesis del nucleósido 6-I.52</b>	<b>20</b>
<b>6-I.6.3.b.2. Síntesis de la fosforamida 6-I.51</b>	<b>21</b>
<b>6-I.6.3.b.3. Pasos finales</b>	<b>22</b>
<b>6-I.6.3.c. Cuestiones</b>	<b>22</b>
<b>6-I.6.4.a. Ledipasvir</b>	<b>22</b>
<b>6-I.6.4.a. Análisis retrosintético</b>	<b>22</b>
<b>6-I.6.4.b.1. Síntesis de la ciclopropilprolina 6-I.66</b>	<b>23</b>
<b>6-I.6.4.b.2. Síntesis del tetrahalofluoreno 6-I.67</b>	<b>24</b>
<b>6-I.6.4.b.3. Síntesis del bicicloaminoácido 6-I.69</b>	<b>24</b>
<b>6-I.6.4.b.4. Síntesis del boronato 6-I.68</b>	<b>25</b>
<b>6-I.6.4.b.5. Pasos finales</b>	<b>26</b>
<b>6-I.6.4.c. Cuestiones</b>	<b>27</b>
<b>6-I.6.5. Simeprevir</b>	<b>28</b>
<b>6-I.6.5.a. Análisis retrosintético</b>	<b>28</b>
<b>6-I.6.5.b.1. Síntesis del aminoéster ciclopropánico 6-I.95</b>	<b>29</b>

<b>6-I.6.5.b.2. Síntesis del ácido hidroxiamidociclopentano- carboxílico 6-I.96</b>	<b>29</b>
<b>6-I.6.5.b.3. Síntesis del quinolin-tiazol 6-I.97</b>	<b>30</b>
<b>6-I.6.5.b.4. Pasos finales</b>	<b>31</b>
<b>6-I.6.5.c. Cuestiones</b>	<b>32</b>

### 6-I.1. Hepatitis C

La hepatitis C es una enfermedad del hígado causada por el virus del mismo nombre. El virus puede causar una infección, tanto aguda como crónica, cuya gravedad varía entre una dolencia leve que dura algunas semanas y una enfermedad grave de por vida.

El virus de la hepatitis C (VHC) es un virus de la familia de los falvivirus y consta de una región central que contiene el ARN que está rodeada por una estructura protéica de forma icosaédrica que, a su vez, está rodeada por una capa lipídica de origen celular. Dos glicoproteínas, denominadas E1 y E2, se encuentran insertadas en la envoltura lipídica.



**Figura 6-I.1. Estructura del virus de la hepatitis C**

El ARN del VHC es monohebra de sentido positivo. El genoma contiene unos 9600 nucleótidos y su translación produce una única proteína que es luego cortada por proteasas celulares y virales en 10 proteínas activas más cortas, que son las responsables de la replicación del virus dentro de la célula hospedadora.

El virus se transmite a través de la sangre, y las causas más comunes de infección son las prácticas de inyección poco seguras, la esterilización inapropiada de equipo médico en algunos entornos de atención sanitaria y la transfusión de sangre y productos sanguíneos sin analizar.

Existen seis tipos diferentes de VHC denominados genotipos, que se numeran del 1 al 6. Algunos genotipos se subdividen en subtipos, por ejemplo, 1a y 1b, etc.

Se calcula que entre 130-150 millones de personas están infectadas por el virus de la hepatitis C. Entre un 15-45% de las personas infectadas elimina el virus espontáneamente en un plazo de seis meses, sin necesidad de tratamiento alguno. El restante 55-85% de los infectados desarrollará infección crónica. De estos enfermos, el 15-30% correrá el riesgo de sufrir cirrosis hepática o cáncer de hígado en un plazo de 20 años. El número de decesos mundiales provocados por esta infección es de alrededor 500.000.

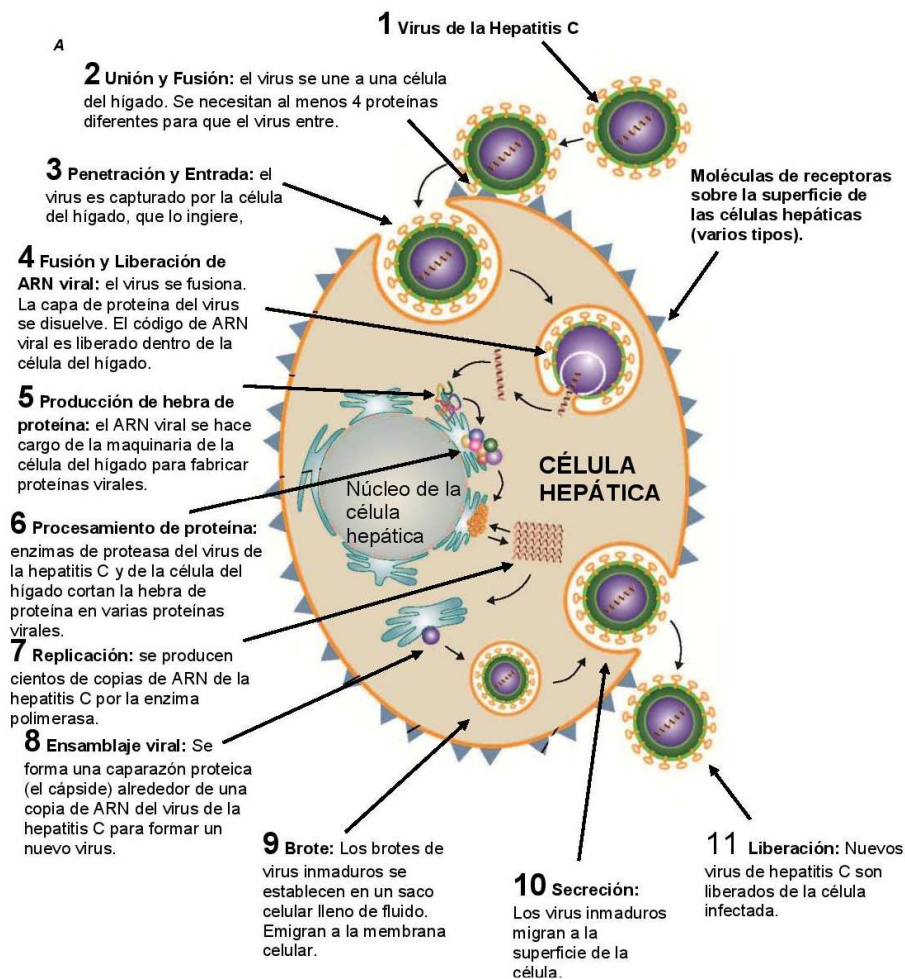
### 6-I.2. El ciclo de vida del virus de la hepatitis C

En la figura 6-I.2 se representa el ciclo de reproducción del virus de la hepatitis C.<sup>1</sup> El VHC se replica preferentemente en el citoplasma de los hepatocitos, pero también es capaz de infectar a otras células como las células dendríticas y las células B. En el suero, el VHC se puede encontrar

<sup>1</sup> Imagen tomada de [http://www.aidsinonet.org/fact\\_sheets/view/670?lang=spa](http://www.aidsinonet.org/fact_sheets/view/670?lang=spa)

libre, unido a inmunoglobulinas o asociado a lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y a lipoproteínas de baja densidad (LDL), siendo esta última la forma infectiva más plausible. Las glicoproteínas de la envuelta viral son capaces de unirse a múltiples proteínas de membrana que podrían servir como receptores. Entre estas proteínas se encuentra el receptor de LDL, el receptor scavenger de clase B tipo I (SR-BI), la molécula de adhesión intercelular 3 no integrina específica de células dendríticas (Dc-SING, CD209) y la tetraspanina (CD81).

Tras la endocitosis mediada por el receptor se produce la fusión de la envuelta viral con la membrana de los endosomas en un proceso mediado por glucoproteínas de la envuelta y dependiente del pH. Esto indica que la entrada se produce pasando por vesícula. La fusión de la envuelta viral con la membrana endosomal va seguida de la liberación del genoma viral en el citoplasma, en donde se traduce y replica.



**Figura 6-I.2. Ciclo de reproducción del virus de la hepatitis C**

El genoma del VHC es un ARN de polaridad positiva, lo que permite al virus entrar directamente en el ribosoma, iniciar la traducción y dar origen a su poliproteína. Esta poliproteína sufre proteólisis por las proteasas virales y por las de la célula hospedadora, mecanismo por el cual se producen 10 proteínas virales de las cuales tres son estructurales (C, E1 y E2) y siete no estructurales (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A y NS5B). La proteína E2 contiene un sitio de



unión para CD81, proteína que se expresa en hepatocitos y linfocitos B, la cual se cree que funciona como un receptor o co-receptor en el proceso de introducción del virus en estas células.

El ARN viral de hebra positiva no contiene la caperuza de 5'-metilguanidina, ni la cola poli A característica de los ARN mensajeros de eucariotas. No obstante, es capaz de dirigir la traducción de la poliproteína. En el extremo 5' terminal se encuentra una región no codificante de aproximadamente 340 nucleótidos (5' UTR). Esta región está altamente conservada en los diferentes aislamientos del VHC y forma una estructura secundaria y terciaria en la cual se encuentra el sitio interno de entrada al ribosoma (IRES) que dirige al ARN viral a la subunidad 40S del ribosoma, en donde se reconoce el codón de inicio de la traducción.

La replicación del ARN viral se lleva a cabo por la enzima ARN-polimerasa dependiente de ARN (codificada por el gen NS5B), que da lugar a una hebra de polaridad negativa intermediaria, que funciona como una "copia maestra" desde la cual se replicarán múltiples hebras de ARN de polaridad positiva.

El proceso de la replicación generalmente no produce la lisis celular. En la mayoría de los casos, la infección crónica continúa durante muchos años, sin evidencia de daño hepático.

### **6.-I.3. Dianas farmacológicas de los nuevos fármacos contra VHC**

Los antivirales pueden curar aproximadamente el 90% de los casos de infección causada por el VHC lo que reduce el riesgo de muerte por cáncer de hígado y cirrosis. El problema para muchos pacientes es que el acceso al diagnóstico y al tratamiento es limitado. En la actualidad no existe ninguna vacuna contra la hepatitis C.

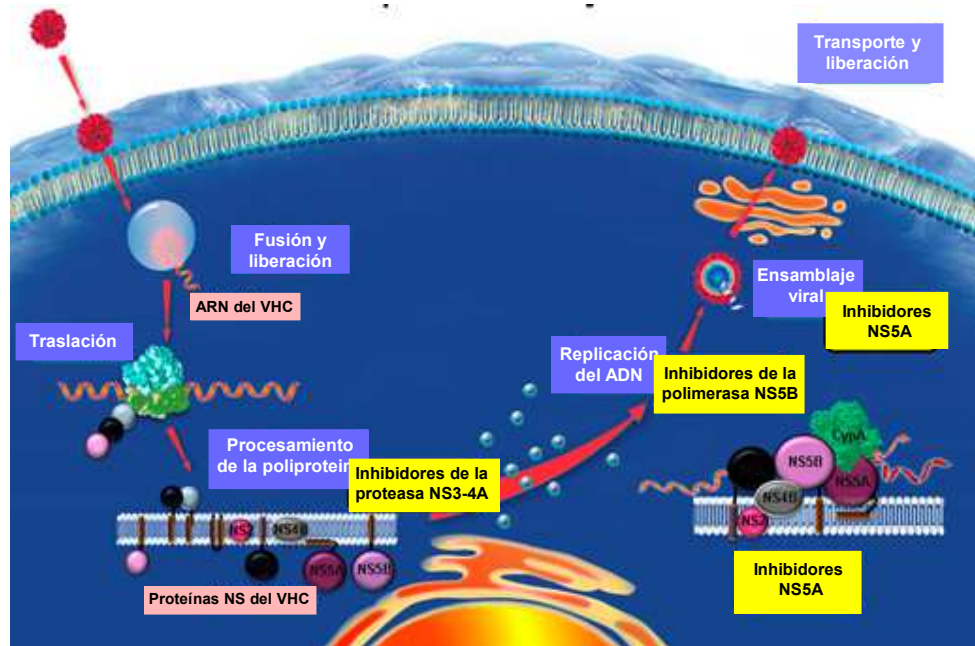
Se considera que el tratamiento farmacológico más efectivo contra la hepatitis C es la combinación de ribavirina (un antiviral que se toma por vía oral) con interferón pegilado alfa (que se administra por vía subcutánea). El tratamiento dura entre 24 y 48 semanas y presenta ciertos efectos secundarios que a veces no son bien tolerados por los pacientes. La respuesta al tratamiento depende, entre otros factores, de la etapa en que se encuentre la enfermedad, del tipo de virus y de la cantidad de virus en la sangre.

En los últimos años ha habido una auténtica revolución en el tratamiento de la hepatitis C debido al desarrollado de fármacos que tienen como dianas biológicas distintas enzimas esenciales para el desarrollo del virus.

Desde 2012 existen dos nuevos fármacos para el tratamiento de la hepatitis C, el telaprevir y el boceprevir, que se añaden al tratamiento combinado con interferón pegilado y ribavirina y consiguen mejorar la proporción de pacientes curados. El telaprevir y el boceprevir son inhibidores de la proteasa del virus y actúan inhibiendo la acción de un complejo enzimático denominado NS3-4A.

En enero de 2014 la Agencia Europea del Medicamento aprobó el empleo del sofosbuvir, un inhibidor de la polimerasa NS5B, en asociación con interferón y ribavirina. En algunos casos esta nueva terapia reduce el tiempo de tratamiento a 12-24 semanas.

En la figura 6-I.3 se representan esquemáticamente las dianas biológicas de estos nuevos fármacos contra la hepatitis C.



**Figura 6-I.3. Dianas farmacológicas de los nuevos fármacos contra VHC**

#### 6.I-4. Interferones

Los interferones son glicoproteínas de la clase de las citoquinas producidas por el sistema inmunitario como respuesta a agentes patógenos, tales como virus y células cancerígenas. El nombre de interferón se debe a su capacidad para interferir en la replicación de los virus en las células hospedadoras. Los interferones se unen a receptores en la superficie de las células infectadas activando diferentes vías de señalización en las que participan diversas proteínas antivirales a fin de impedir la replicación de una amplia variedad de virus de ARN y ADN. Los interferones también se encargan de activar células inmunes, como los macrófagos y las células NK, de incrementar el reconocimiento de células cancerígenas o infecciones al dinamizar la presentación de antígenos a los linfocitos y, también, de aumentar la capacidad de las células sanas para resistir a nuevas infecciones víricas. Ciertos síntomas como el dolor muscular y la fiebre están relacionados con la producción de interferones durante la fase de infección.

Los interferones alfa incluyen más de 25 subtipos entre los cuales el interferón alfa-2b representa sólo un subtipo específico. El interferón alfa-2b contiene 165 aminoácidos y difiere del interferón alfa-2a en un solo aminoácido en la posición 23.

Los interferones alfa son generalmente activos contra los siguientes virus in vitro: adenovirus, coronavirus, virus de la encefalomiocarditis, virus de la hepatitis B, virus de la hepatitis C, virus de la hepatitis D, virus del herpes simple tipo 1, virus del herpes simple tipo 2, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), virus del papiloma, poliovirus, rinovirus, virus vaccinia, virus de la varicela-zoster, virus de la estomatitis vesicular y virus linfotrópico T humano tipo I (HTLV-I).

Los interferones alfa estimulan la producción de citoquinas tales como la interleukina (IL) -1beta e IL-1ra (un antagonista del receptor de IL-1) y, por tanto, pueden afectar a la respuesta inflamatoria. Los interferones alfa también pueden inhibir las enzimas microsomales involucradas en el sistema citocromo hepático P-450. El efecto del interferón en el sistema CYP450 puede estar

relacionado con un aumento de la degradación enzimática, la síntesis de la enzima suprimida, o la inhibición del citocromo P-450. Las implicaciones de este efecto no se han evaluado completamente, pero podría afectar al metabolismo de ciertos fármacos.

Todos los alfa-interferones comparten actividades biológicas comunes generados por la unión del interferón al receptor de la superficie celular. Aunque el mecanismo exacto de acción no se conoce completamente, la unión del interferón al receptor de la superficie celular va seguida por la activación de tirosina-quinasa, lo que conduce a la producción de varias enzimas tales como 2'-5'-oligoadenilato sintetasa (2'-5'-OEA), la proteína quinasa y la beta-2-microglobulina. Estas enzimas intracelulares inducidas por el interferón contribuyen a la inhibición de la replicación viral mediante la activación de endorribonucleasas que escinden el ARN viral de cadena sencilla quedando, por lo tanto, inhibida la traducción de las proteínas virales. La actividad de las enzimas inducidas por el interferón depende de la presencia de ARN de doble cadena que se forma durante la replicación viral.

Las enzimas inducidas por el interferón también pueden inhibir la penetración viral en las células, el ensamblaje viral y la salida de los virus de la célula. La expresión de antígenos mayores de histocompatibilidad, provocada por la acción de los interferones, también puede contribuir a la actividad antiviral mediante el aumento de los efectos líticos de los linfocitos T citotóxicos.

En la hepatitis C crónica el tratamiento con interferones se asocia con la normalización de ALT (Amino Alanina Transferasa), del ARN del VHC en el suero y con la mejora en la histopatología hepática. El genotipo 1 del VHC es más resistente al tratamiento con interferón alfa que otros genotipos virales.

El interferón pegilado es un conjugado covalente formado por la unión de interferón al polímero polietilenglicol. La pegilación consiste en la modificación de una molécula biológica mediante unión covalente con el polímero hidrosoluble polietilenglicol (PEG). La pegilación cambia las propiedades de la molécula inicial, mejorando su solubilidad, disminuyendo su capacidad para ocasionar respuestas alérgicas y haciendo posible una menor frecuencia de administración sin pérdida de eficacia.

### 6.I-5. Ribavirina

La ribavirina (1-beta-D-ribofuranosil-1,2,4-triazol-3-carboxamida) es un análogo sintético de guanosina. Fue sintetizado originalmente en la década de 1970 y ha mostrado ser activo contra muchos virus ADN y ARN.

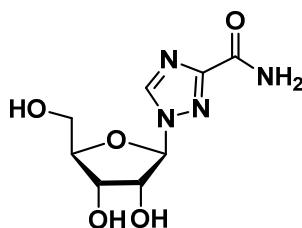


Figura 6-I.4. Estructura de la ribavirina

La ribavirina fue aprobada por la FDA en diciembre de 1985 para su uso como un aerosol en el tratamiento de infecciones por virus sincitial respiratorio. En enero de 1994, se reconoció la ribavirina como útil en el tratamiento del herpes zoster y las infecciones de herpes genital, así

como la varicela. La ribavirina en monoterapia no es eficaz en el tratamiento de la hepatitis C crónica, pero sí lo es en combinación con interferón alfa. La ribavirina intravenosa se utiliza para el tratamiento de la infección por el virus Hanta y la fiebre de Lassa.

No se conoce por completo el efecto antiviral de la ribavirina. La ribavirina se fosforila intracelularmente a mono-, di-, y trifosfatos. Una vez fosforilada, la ribavirina altera el metabolismo celular de las purinas mediante la inhibición de la inosina monofosfato deshidrogenasa, lo que conduce a una disminución de trifosfato de guanosina. El resultado de esta acción de la ribavirina es la inhibición del ARN viral y de la síntesis de proteínas, interfiriendo con la capacidad del virus para propagarse a otras células. La actividad antiviral se puede revertir por la adenosina o la guanosina. En concentraciones más altas a la requerida para inhibir la síntesis de ADN viral, la ribavirina muestra cierta citotoxicidad para las células huésped. La ribavirina también aumenta la producción de citoquinas antivirales tales como la interleukina (IL)-2, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa) y el interferón-gamma.

## 6-I.6. Síntesis de antivirales

### 6-I.6.1. Telaprevir

El telaprevir se emplea en el tratamiento de la hepatitis C serotipo 1, y no se recomienda cuando la infección está causada por otros serotipos del virus. Se administra en asociación con ribavirina e interferón pegilado.

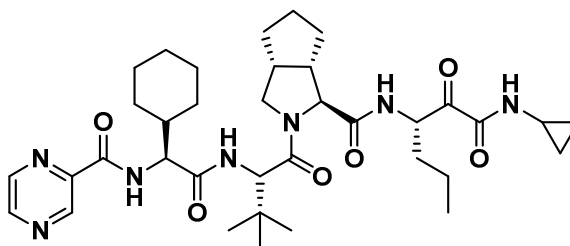


Figura 6-I.5. Estructura del telaprevir

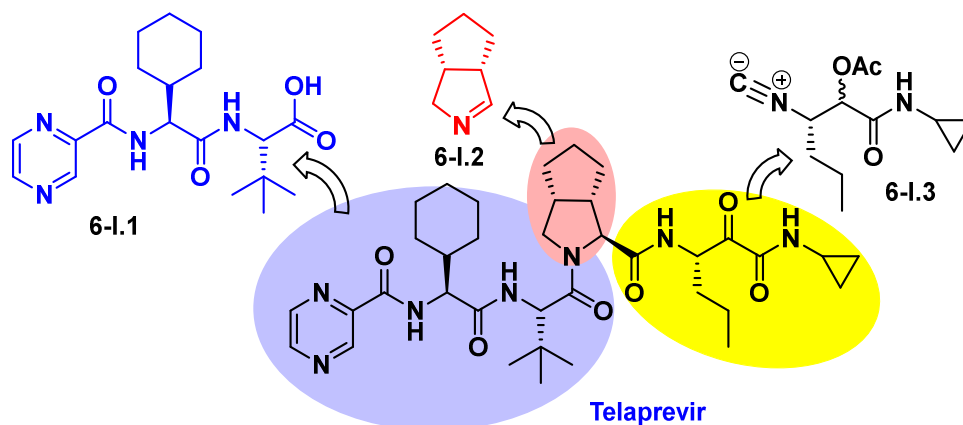
El telaprevir actúa inhibiendo la acción del complejo enzimático NS3-4A, lo que impide la formación de proteínas esenciales no-estructurales del virus, de forma que las partículas virales que surgen del ciclo de reproducción son mucho menos virulentas.

El telaprevir puede ocasionar anemia, erupciones en la piel, náuseas, diarrea, exantema, disminución de plaquetas en sangre (trombopenia) y disminución de linfocitos en sangre (linfopenia).

#### 6-I.6.1.a. Análisis retrosintético

En el esquema 6-I.1 se indica una desconexión del telaprevir basada en la síntesis de este antiviral efectuada por E. Ruijter y colaboradores.<sup>2</sup>

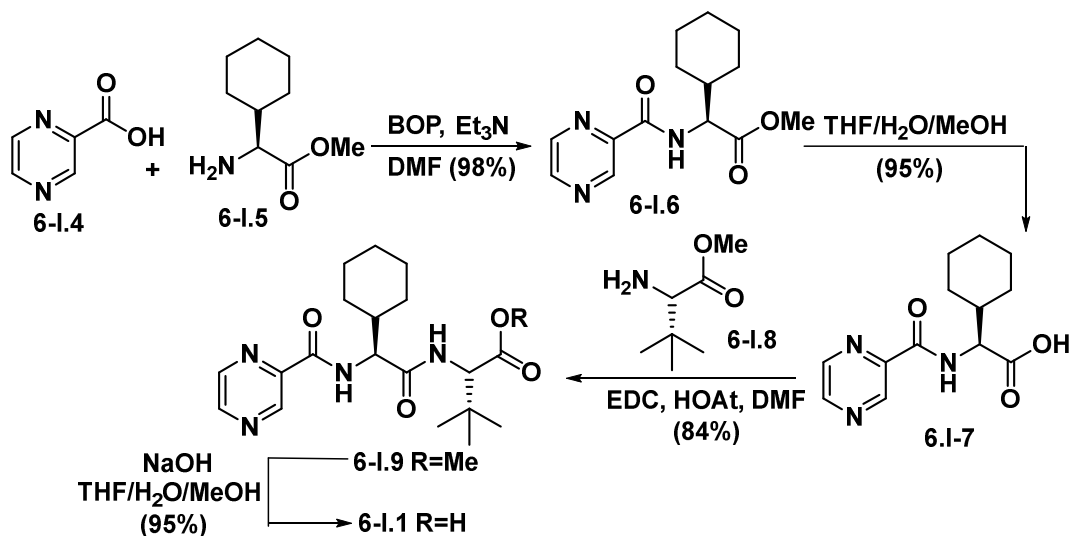
<sup>2</sup> Znabet, A.; Polak, M. M.; Janssen, E.; de Kanter, F. J. J.; Turner, N. J.; Orru, R. V. A., Ruijter, E. *Chem. Commun.* **2010**, 46, 7918–7920.



Esquema 6-I.1

### 6-I.6.1.b.1. Síntesis del pirazino-ácido 6-I.1

En el esquema 6-I.2 se indica la síntesis del pirazino-ácido **6-I.1** que se inició con el acoplamiento peptídico entre el ácido 2-pirazinocarboxílico **6-I.4** y el (*S*)-2-aminociclohexilacetato de metilo **6-I.5**.<sup>3</sup> La reacción de amidación se llevó a cabo en presencia de hexafluorofosfato de (benzotriazol-1-iloxi)(tris)(dimetilamino)fosfonio (BOP) y trietilamina en DMF. La reacción proporcionó el amidoéster **6-I.6** que por saponificación se convirtió en el amidoácido **6-I.7**.



Esquema 6-I.2

La amidación entre el ácido **6-I.7** y el (*R*)-2-amino-3,3-dimetilbutanoato de metilo **6-I.8**<sup>4</sup> se llevó a cabo en presencia de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC) y 1-hidroxi-7-

<sup>3</sup> Para una síntesis de este compuesto véase: Ager, D. J.; Prakash, I. *Org. Process Res. Dev.* **2003**, *7*, 164-167.

<sup>4</sup> Para síntesis de la *t*-leucina véase: (a) Speelman, J. C.; Talma, A. G.; Kellogg, R. M.; Meetsma, A.; de Boer, J. L.; Beurskens, P. T.; Bosman, W. P. *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 1055-1062. (b) Corey, E. J., Link, J. O. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 1906-1908. Para una revisión de síntesis de *t*-leucina véase: Bommarius,

azabenzotriazol (HOAt) en DMF. El péptido obtenido, compuesto **6-I.9**, se convirtió en el pirazino-ácido **6-I.1** mediante saponificación.

### 6-I.6.1.b.2. Síntesis del hexahidrociclopentapirrol **6-I.2**

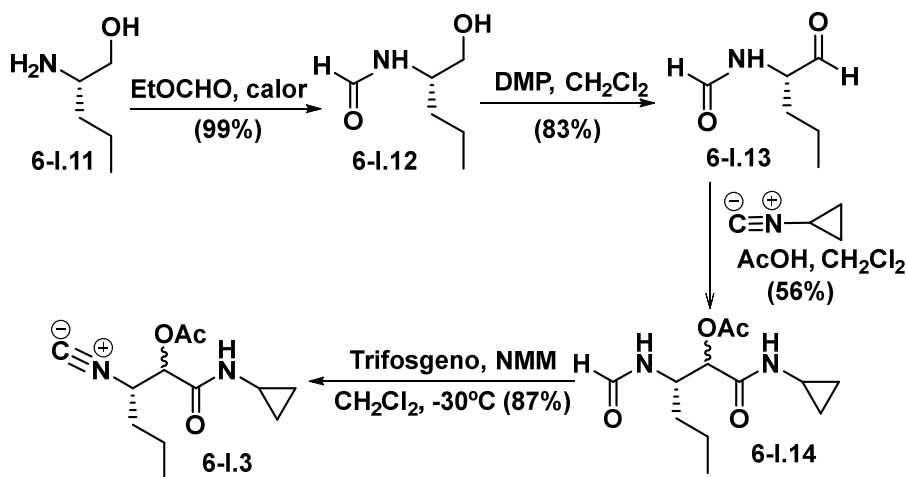
Este compuesto se obtuvo mediante reacción de oxidación enzimática del octahidrociclopentanopirrol **6-I.10** utilizando la monoaminoxidasa MAO-N D5 de *Escherichia coli* en un tampón fosfato potásico (100 mM, pH = 8.0) (véase el esquema 6-I.3).<sup>5</sup>



Esquema 6-I.3

### 6-I.6.1.b.3. Síntesis del isocianuro **6-I.3**

La síntesis del isocianuro **6-I.3** se inició con la *N*-formilación del (*S*)-2-aminopentan-1-ol **6-I.11** (esquema 6-I.4). Esta reacción proporcionó el compuesto **6-I.12** que por oxidación con el reactivo de Dess-Martin condujo al aldehído **6-I.13**. La reacción de Passerini entre el aldehído **6-I.13**, el isocianuro de ciclopropilo y el ácido acético llevó a la  $\alpha$ -acetoxiamida **6-I.14**. Este compuesto, por deshidratación con trifosgeno y *N*-metilmorfolina en diclorometano, se transformó en el isocianuro **6-I.3**.



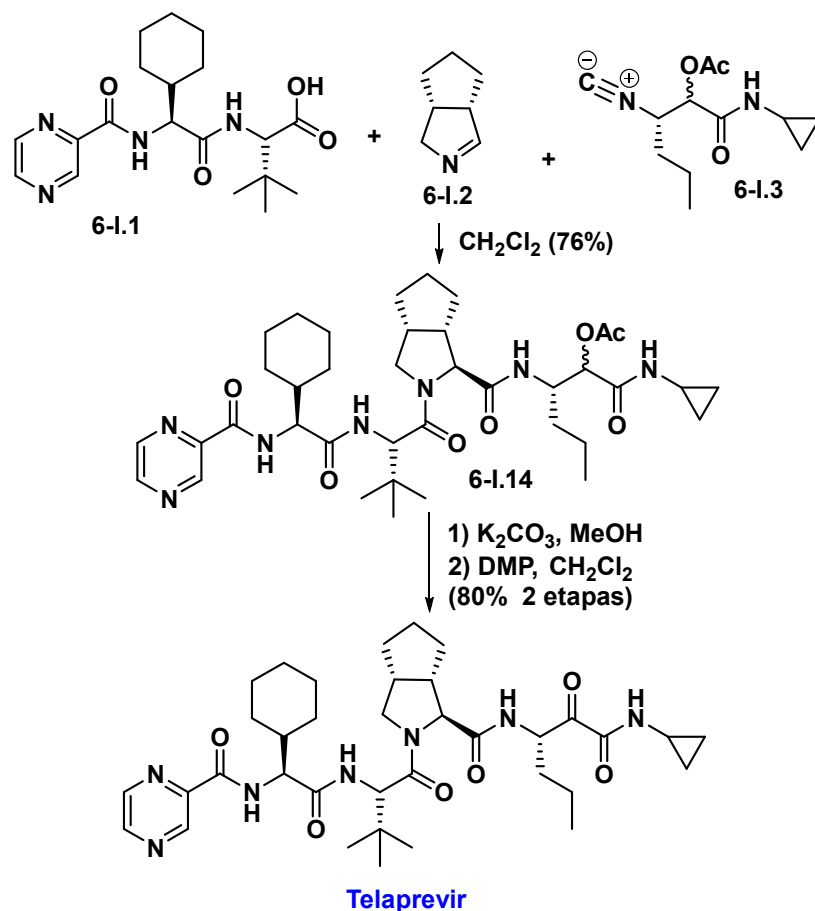
Esquema 6-I.4

A. S.; Schwarm, M.; Stingl, K.; Kottenhahn, M.; Huthmacher, K.; Drauz, K. *Tetrahedron:Asymmetry* **1995**, *12*, 2851-2888.

<sup>5</sup> Köhler, V.; Bailey, K. R.; Znabet, A.; Raftery, J.; Helliwell, M.; N. Turner, N. J. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2010**, *49*, 2182-2184.

#### 6-I.6.1.b.4. Pasos finales

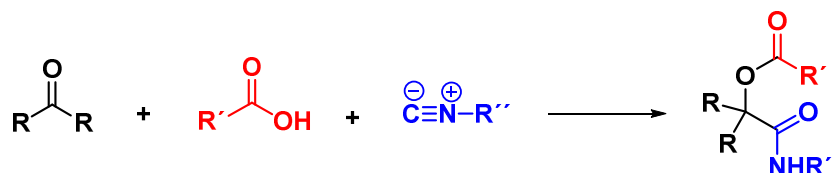
La unión de los tres bloques de construcción se consiguió mediante reacción de Ugi en diclorometano (esquema 6-I.5). El acoplamiento proporcionó la  $\alpha$ -acetoxiamida **6-I.14** la cual se convirtió en telaprevir mediante saponificación y oxidación con el reactivo de Dess-Martin.



Esquema 6-I.5

#### 6-I.6.1.c. Cuestiones

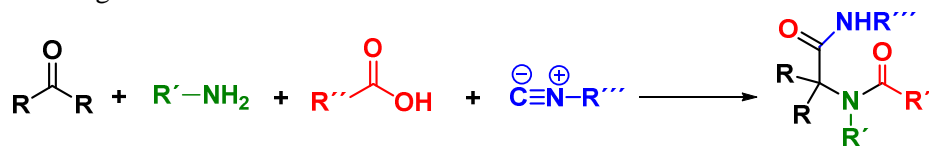
1) La reacción de Passerini permite la obtención de  $\alpha$ -aciloxiamidas mediante reacción one-pot de un compuesto carbonílico (aldehído o cetona) con un ácido carboxílico y un isocianuro de alquilo. En el esquema 6-I.6 se indica la reacción general de Passerini.



Esquema 6-I.6

Explique mecanísticamente la formación de la  $\alpha$ -acetoxiamida **6-I.14** mediante la reacción de Passerini entre el aldehído **6-I.13**, el isocianuro de ciclopropilo y el ácido acético.

2) La reacción de Ugi es una reacción multicomponente en la que se emplea una amina, un compuesto carbonílico, un ácido carboxílico y un isocianuro de alquilo. El esquema general de la reacción es el siguiente:



Esquema 6-I.7

El mecanismo de la reacción se inicia con la formación de una imina por condensación de la amina con el compuesto carbonílico. También se puede emplear una imina preformada, como en el caso de la síntesis del telaprevir. Con estos datos proponga un mecanismo para la formación del compuesto **6-I.14** por reacción entre el ácido **6-I.1**, la imina **6-I.2** y el isocianuro **6-I.3**.

### 6-I.6.2. Boceprevir

El boceprevir es un inhibidor de la proteasa NS3 del virus de la hepatitis C (genotipo I) y se emplea en el tratamiento de esta enfermedad en combinación con interferón pegilado y ribavirina. El boceprevir se une de manera covalente, aunque reversible, a la serina del sitio activo de la proteasa NS3 (Ser139) mediante un grupo funcional  $\alpha$ -cetoamida lo que provoca la inhibición de la replicación vírica en las células hospedadoras infectadas por el VHC.

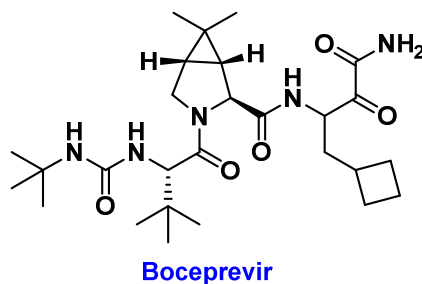


Figura 6-I.5. Estructura del boceprevir

En la figura 6-I.6 se indica la colocación del boceprevir en el sitio activo de la proteasa NS3.<sup>6</sup> La parte de ciclobutilamina ocupa la mayor parte del bolsillo S1 de la enzima. La parte de dimetilciclopropilprolina adopta una conformación doblada que permite el máximo solapamiento de los metilenos de la prolina y del anillo de ciclopropilo con el aminoácido Ala-156. La conformación que adopta la prolina ciclopropanada permite que el grupo metilo próximo al grupo carbonilo interaccione con His-57 y el grupo metilo distante del carbonilo interaccione con Ala-156 y Arg-155. La cadena lateral de la parte de *t*-butilglicina ocupa el bolsillo S3 de la enzima con dos de los grupos metilo del *t*-butilo interaccionando con la proteasa y quedando el tercer grupo metilo expuesto al disolvente. El grupo *t*-butilo terminal (en la parte de urea) ocupa el bolsillo S4 lo que provoca el aumento de la capacidad de unión del boceprevir a la proteasa. La cetoamida electrofílica se enlaza de forma covalente, aunque reversible, con la Ser-139. El hidrógeno de la amida primaria forma un enlace de hidrógeno dador con el entramado peptídico de la proteasa, uniendo al inhibidor con la superficie enzimática.

<sup>6</sup> Figura tomada de Venkatraman, S.; Bogen, S. L.; Arasappan, A, Bennet, F.; et al. *J. Med. Chem.* **2006**, *49*, 6074-6086.



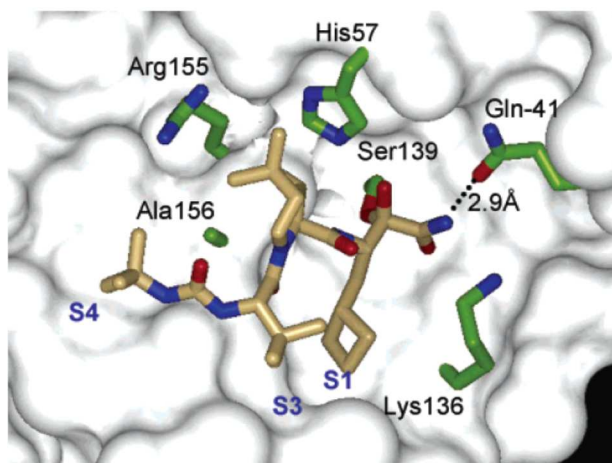


Figura 6-I.6

En la figura 6-I.7 se indican los enlaces de hidrógeno que establece el boceprevir con el centro activo de la proteasa. Se indica también el enlace covalente que se forma por ataque nucleofílico de Ser-139 al carbonilo de la parte de  $\alpha$ -cetoamida.

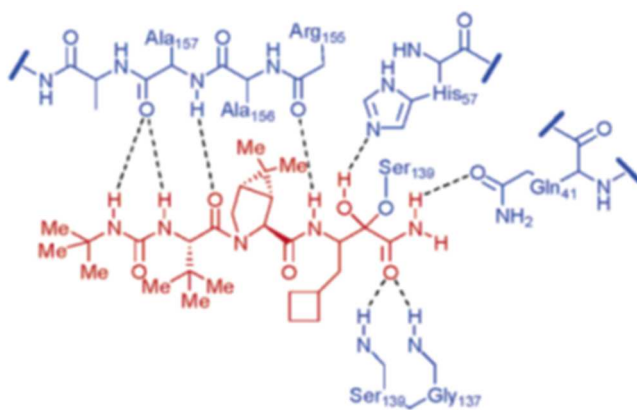
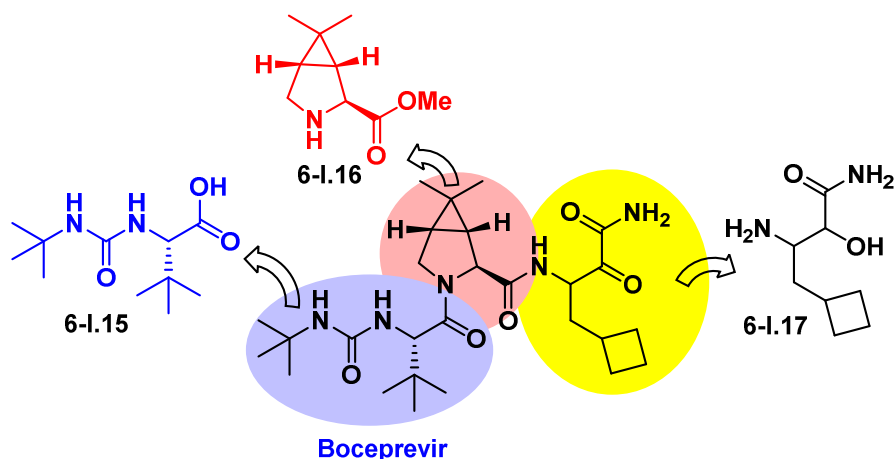


Figura 6-I.7

#### 6-I.6.2.a. Análisis retrosintético

En el esquema 6-I.5 se indica una desconexión del boceprevir basada en la síntesis de este antiviral llevada a cabo por D. S. Bhalerao y colaboradores.<sup>7</sup> Los principales bloques de construcción del boceprevir serán la urea funcionalizada **6-I.15**, el ciclopropilprolinato de metilo **6-I.16** y la hidroxiaminoamida **6-I.17**.

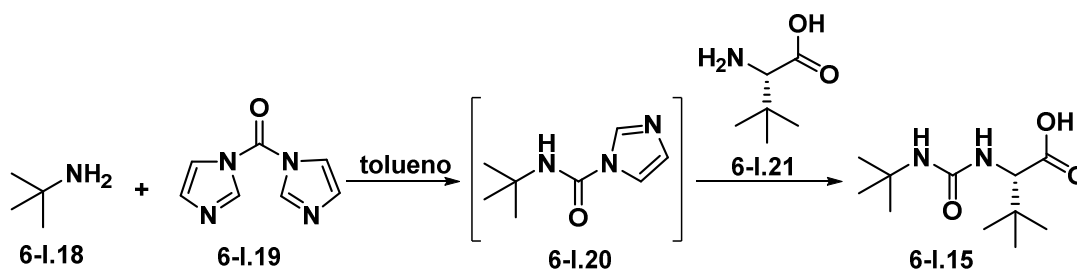
<sup>7</sup> Bhalerao, D. S.; Arkala, A. K. R.; Madhavi, Y. V.; Nagaraju, M.; Gade, S. R.; Kumar, U. K. S.; Bandichhor, R.; H. Dahanukar, V. H. *Org. Process Res. Dev.* doi: 10.1021/op500065t.



Esquema 6-I.5

### 6-I.6.2.b.1. Síntesis de la carboxiurea 6-I.15

La carboxiurea **6-I.15** se obtuvo mediante reacción de la *t*-butilamina **6-I.18** con carbonildimidazol **6-I.19** seguida de reacción del correspondiente imidazólido **6-I.20** con la *t*-leucina **6-I.15** (esquema 6-I.6).



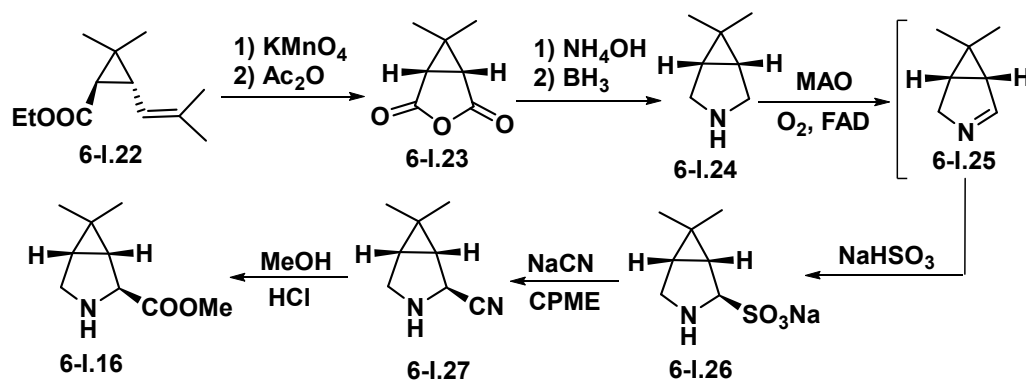
Esquema 6-I.6

### 6-I.6.2.b.2. Síntesis de dimetilciclopropilprolinato de metilo 6-I.16

Para la síntesis del dimetilciclopropilprolinato de metilo **6-I.16** se puede emplear como material de partida el crisantemato de etilo **6-I.22**, que se obtiene de las piretrinas. La ruptura oxidante del doble enlace seguida de calentamiento con anhídrido acético proporciona el anhídrido bicíclico **6-I.23**, el cual se convierte en la pirrolidina bicíclica **6-I.24** por reacción con amoníaco seguida de reducción (esquema 6-I.7). La desimetrización oxidativa bioenzimática de **6-I.24** se llevó a cabo bajo corriente de aire presencia de la monoaminoxidasa MAON291, de una catalasa<sup>8</sup> y de bisulfito sódico de manera que la imina **6-I.25** se convierte in situ en el sulfonato **6-I.26** (cuando la oxidación se efectúa a gran escala se lleva a cabo en un reactor cerrado, bajo oxígeno y en presencia de MAON401 ya que esta oxidasa incrementa su actividad bajo presión de oxígeno).<sup>9</sup> La reacción del sulfonato **6-I.26** con cianuro sódico en ciclopentil metil éter, a 15°C, conduce al aminonitrilo **6-I.27** el cual, mediante metanolisis ácida, proporciona el dimetilciclopropilprolinato de metilo **6-I.16**.

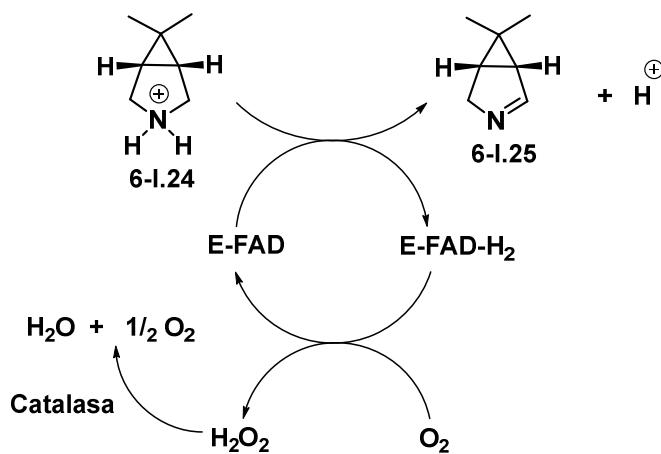
<sup>8</sup> La catalasa se adiciona para convertir el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno.

<sup>9</sup> Tao Li, T.; Liang, J.; Ambrogelly, A.; Brennan, T.; et al. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 6467-6472.



Esquema 6-I.7

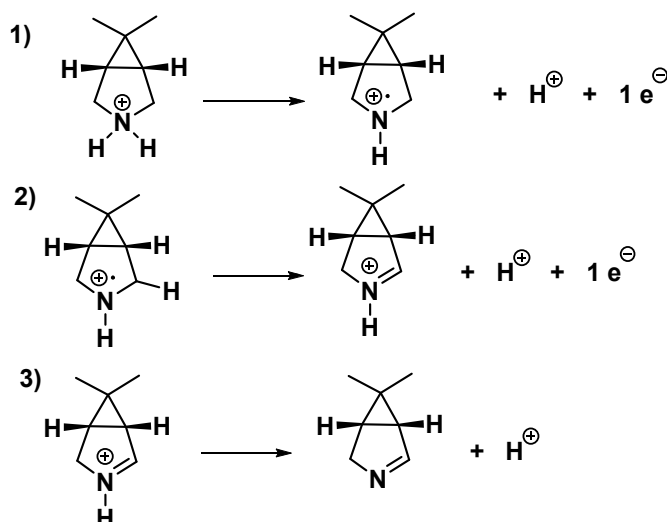
En el esquema 6-I.8 se indica el ciclo catalítico que opera en la reacción de conversión de la pirrolidina **6-I.24** en la imina **6-I.25**.



Esquema 6-I.8

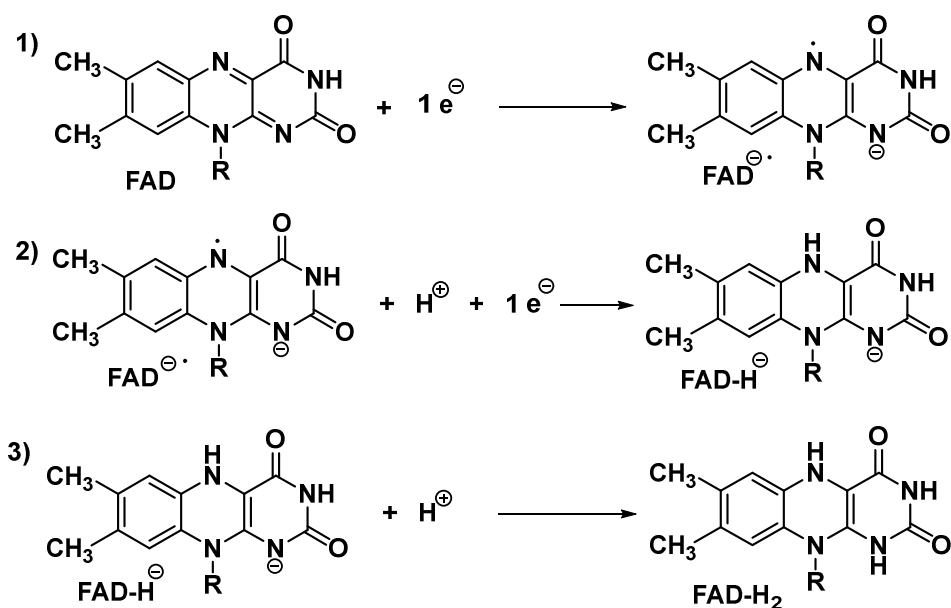
La oxidación de la pirrolidina **6-I.24**, que se encuentra protonada en las condiciones de la reacción enzimática, tiene lugar mediante un mecanismo de transferencia monoelectrónica que se indica en el esquema 6-I.9. El mecanismo se inicia con la formación de un catión radicalario por pérdida de un protón y un electrón en la pirrolidina **6-I.24** protonada (paso 1 del esquema 6-I.9). Una nueva etapa de transferencia monoelectrónica, con pérdida asociada de protón, forma la imina protonada (paso 2 del esquema 6-I.9). Finalmente, la desprotonación de la imina conduce a la imina neutra (paso 3 del esquema 6-I.9).

En total se pierden en el proceso oxidante dos electrones y tres protones. El FAD captura los dos electrones y dos de los protones.



Esquema 6-I.9

En el esquema 6-I.10 se describe el mecanismo de reducción del FAD, que tiene lugar también mediante procesos de transferencia monoeléctrica.

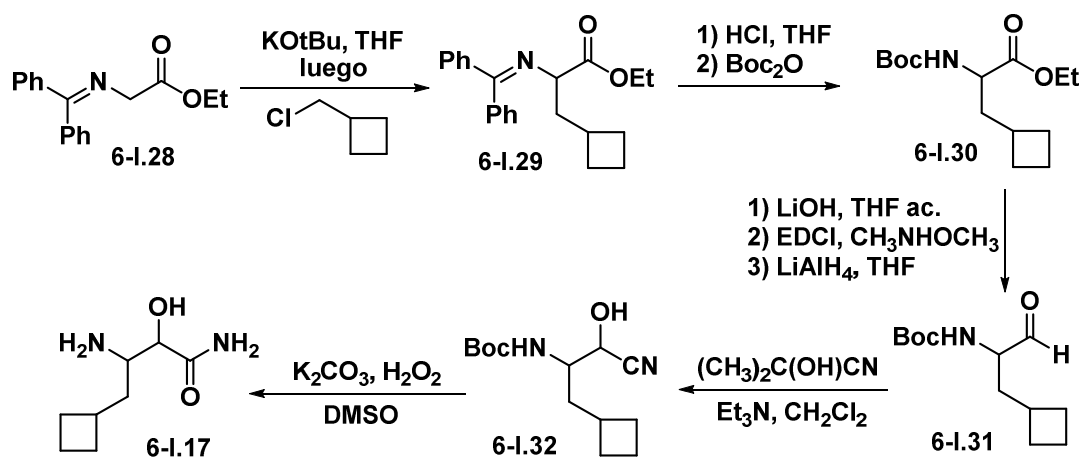


Esquema 6-I.10

### 6-I.6.2.b.3. Síntesis de la aminohidroxiamida 6-I.17

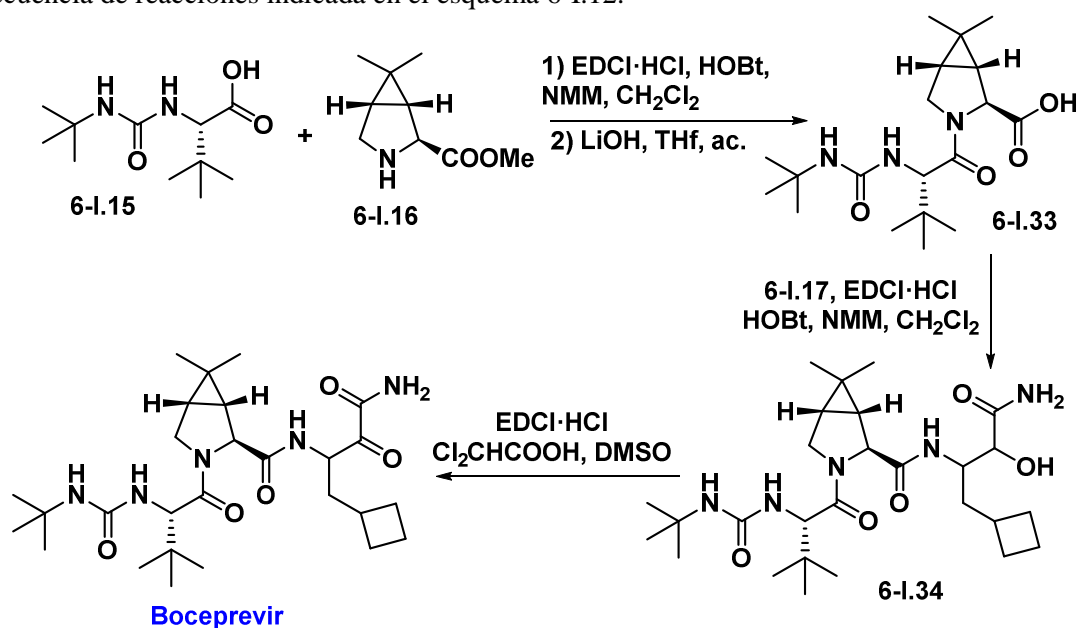
Para la síntesis de la aminohidroxiamida **6-I.17** se eligió como material de partida la difenilimina derivada del glicinato de etilo **6-I.28** (esquema 6-I.11, véase la ref. 6). La ionización de este compuesto con *t*-butóxido de potasio seguida de reacción  $\text{S}_{\text{N}}2$  con el (clorometil)ciclobutano proporcionó al compuesto **6-I.29**. La hidrólisis ácida de la función imina, seguida de *N*-Boc protección, condujo al aminoéster protegido **6-I.30**. Este compuesto se convirtió en el aldehído **6-I.31** mediante saponificación, conversión del ácido en la correspondiente *N*-metoxi,*N*-metilamida y reducción de ésta con  $\text{LiAlH}_4$ . El aldehído **6-I.31** se

transformó en la cianohidrina **6-I.32** por reacción con la cianohidrina de la acetona en presencia de trietilamina. Finalmente, la hidrólisis básica de la función nitrilo con peróxido de hidrógeno en dimetilsulfóxido, condujo a la aminohidroxiamida **6-I.17**.<sup>10</sup>



#### 6-I.6.2.b.4. Pasos finales

Una vez preparados los bloques de construcción, el boceprevir se obtuvo mediante la secuencia de reacciones indicada en el esquema 6-I.12.



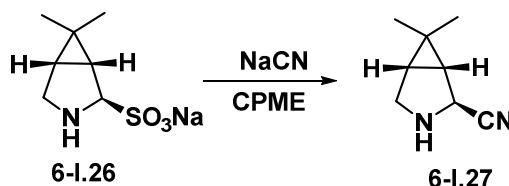
La reacción de amidación entre el ácido **6-I.15** y el pirrolidinoéster **6-I.16**, en presencia del clorhidrato de 1-etil-3-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDCI·HCl) y de hidroxibenzotriazol

<sup>10</sup> Para estudios mecanísticos sobre el proceso de hidrólisis de nitrilos con peróxido de hidrógeno véase: (a) McIsaac, J. E.; Ball, R. E.; Behrman. *J. Org. Chem.* **1971**, *36*, 3048-3050. (b) Sawaki, Y.; Ogata, Y. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1981**, *54*, 793-799.

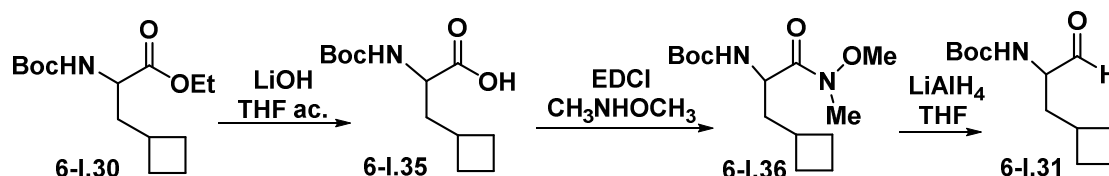
(HOBt), proporcionó el correspondiente compuesto de acoplamiento que por saponificación se convirtió en el ácido **6-I.33**. Una nueva reacción de amidación, esta vez entre el ácido **6-I.33** y la aminohidroxiamida **6-I.17**, condujo al compuesto **6-I.34** el cual, por oxidación tipo Moffatt con dimetilsulfóxido, EDCI·HCl y ácido dicloroacético, proporcionó el boceprevir.

### 6-I.6.2.c. Cuestiones

1) Proponga un mecanismo para la siguiente reacción:



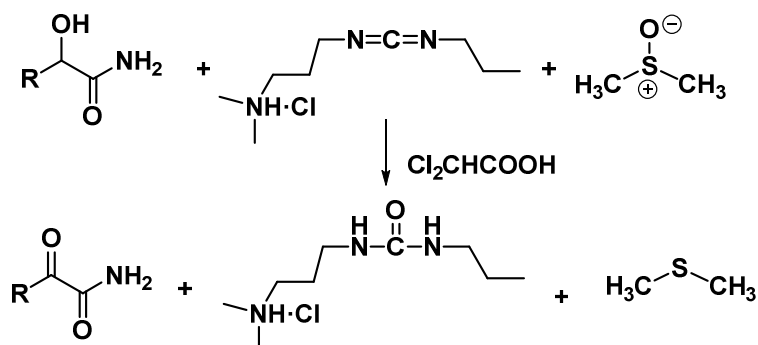
2) En la conversión de **6-I.30** en **6-I.31** se generan los siguientes compuestos intermedios (esquema 6-I.13):



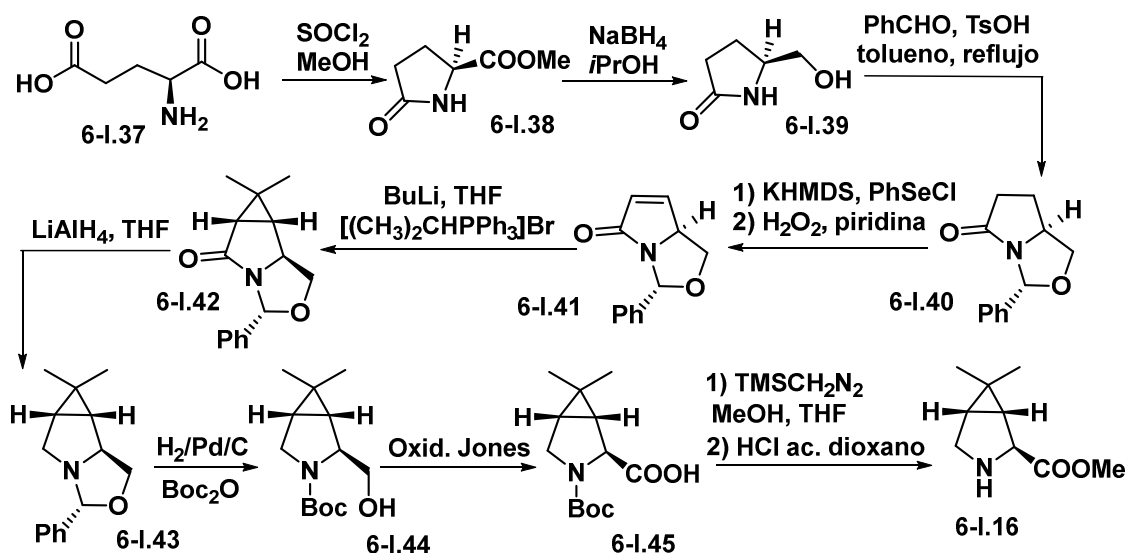
**Esquema 6-I.13**

La reducción de la amida **6-I.36** con  $\text{LiAlH}_4$  proporciona directamente el aldehído, sin que se observe la formación del correspondiente alcohol. Proponga una explicación para la quimioselectividad de esta reacción.

3) El último paso sintético en la preparación del boceprevir es la oxidación de la  $\alpha$ -hidroxiamida **6-I.34** por reacción con dimetilsulfóxido, EDCI·HCl y ácido dicloroacético. La reacción ajustada de este proceso se indica en el esquema 6-I.14. Proponga un mecanismo para esta reacción de oxidación.



En el esquema 6-I.15 se describe una síntesis alternativa para el dimetilciclopropilprolinato de metilo **6-I.16**. El compuesto de partida es el ácido L-glutámico **6-I.37** que se convierte en el piroglutamato de metilo **6-I.38** por reacción con cloruro de tionilo en metanol.<sup>11</sup> La reducción del piroglutamato con NaBH<sub>4</sub> proporciona el alcohol **6-I.39**. La condensación de este compuesto con benzaldehído permite la obtención de amina **6-I.40**.<sup>12</sup> La inización de este compuesto con bis(trimetilsilil)amiduro) de potasio, seguida de reacción con PhSeCl, conduce a un fenilselenoderivado el cual, mediante oxidación con H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, experimenta un proceso de eliminación que conduce a la lactama conjugada **6-I.41**. La reacción del bromuro de isopropiltrifenilfosfonio con butil-litio genera el correspondiente iluro que se adiciona al compuesto **6-I.41** para dar lugar a la dimetilciclopropil-lactama **6-I.42** (véase la referencia 6) la cual, por reducción con LiAlH<sub>4</sub>, se transforma en la pirrolidina **6-I.43**. La hidrogenólisis de **6-I.43** en presencia de Boc<sub>2</sub>O conduce a la dimetilciclopropilpirrolidina *N*-Boc protegida **6-I.44**. Este compuesto, mediante oxidación de Jones, esterificación y *N*-Boc desprotección, proporciona el dimetilciclopropilprolinato de metilo **6-I.16**.



Esquema 6-I.15

- a) Escriba el producto de la reacción de **6-I.40** con KHMDS y PhSeCl. Explique mecanísticamente la transformación del producto de la reacción anterior en la lactama insaturada **6-I.41** por reacción con peróxido de hidrógeno.
- b) Explique mecanísticamente la formación de la dimetilciclopropil-lactama **6-I.42** por reacción con bromuro de isopropiltrifenilfosfonio y butil-litio.

<sup>11</sup> (a) Van, C. T.; Zdobinsky, T.; Seebohm, G.; Nennstiel, D.; Zerbe, O.; Scherkenbeck, J. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 2714–2725. (b) Saleh, A.; D'Angelo, J. D.; Morton, M. D.; Quinn, J.; Redden, K.; Rafal W. Mielguz, R. W.; Pavlik, C.; Smith, M. B. *J. Org. Chem.* **2011**, 76, 5574–5583.

<sup>12</sup> Kamath, V. P.; Xue, J.; Juarez-Brambila, J. J.; Philip E. Morris, P. E. *Tetrahedron Lett.* **2009**, 50, 5198–5200

### 6-I.6.3. Sofosbuvir

El sofosbuvir es un análogo de nucleótido que se emplea en combinación con otros fármacos en el tratamiento de la hepatitis C. En comparación con otras terapias, las basadas en sofosbuvir permiten un mayor índice de curación con menos efectos secundarios y con periodos de tratamiento que se reducen a la mitad e incluso a la cuarta parte del tiempo que requieren otras terapias. Otra ventaja del sofosbuvir es que muchos pacientes pueden ser tratados exitosamente sin necesidad de empleo del interferón pegilado, que es un fármaco con algunos efectos secundarios severos y que necesita ser administrado mediante inyección subcutánea.

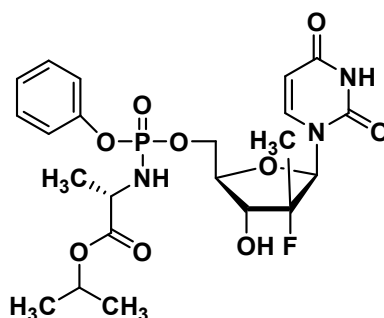


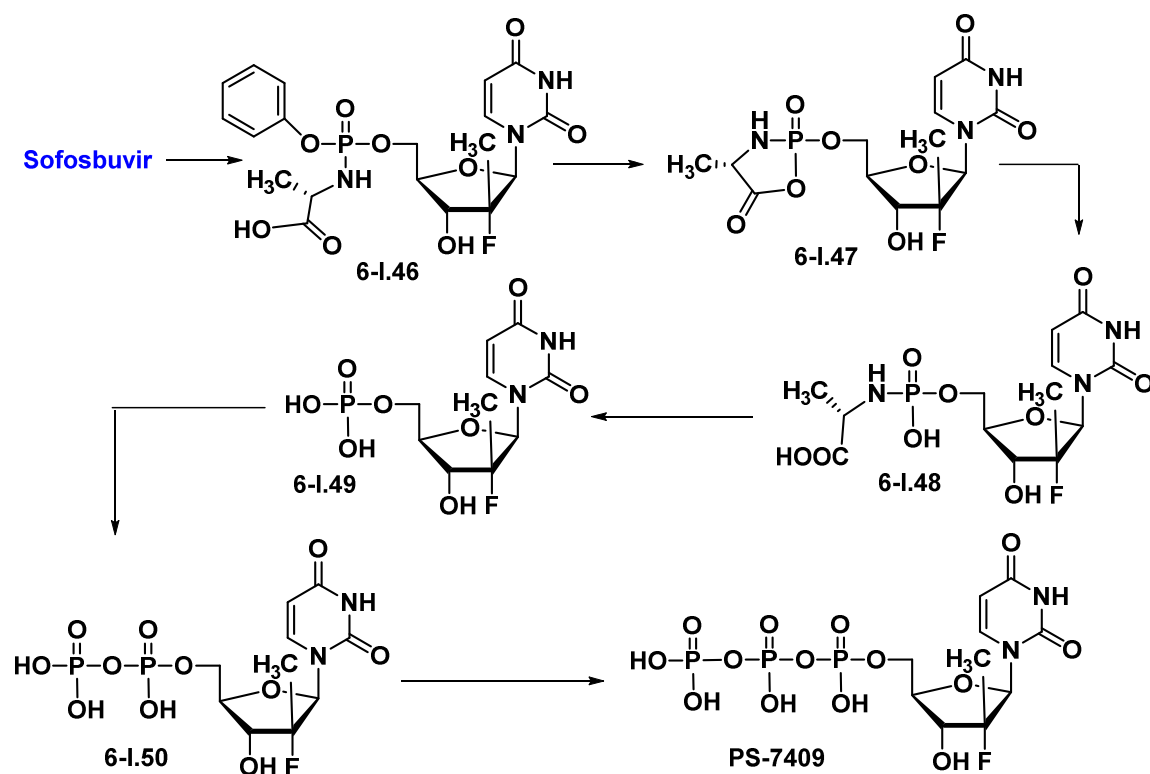
Figura 6-I.8. Estructura del sofosbuvir

El sofosbuvir es un inhibidor nucleotídico de la polimerasa NS5B dependiente de ARN. El sofosbuvir es un profármaco y sufre un metabolismo intracelular originando un análogo trifosfato de la uridina, que es el metabolito farmacológicamente activo. Este compuesto, denominado **PSI-7409** se incorpora en el ARN del VHC por acción de la NS5B polimerasa y actúa como un terminador de cadena. El **PSI-7409** inhibe la actividad de la polimerasa de la NS5B recombinante de los genotipos 1b, 2a, 3a y 4a con valores de  $IC_{50}$  que van desde 0,7 hasta 2,6  $\mu\text{M}$ . Aunque el **PSI-7409** puede considerarse como un inhibidor de amplio espectro, no es un inhibidor de las polimerasas ADN y ARN humanas ni un inhibidor de la ARN polimerasa mitocondrial.

En el esquema 6-I.16 se indica la secuencia de reacciones que transforma el sofosbuvir en el trifosfato **PSI-7409**.<sup>13</sup> La primera etapa de la secuencia metabólica es la hidrólisis de la función éster, que se lleva a cabo por la catépsina A (CatA) y/o la carboxilesterasa 1 (CES1). Esta reacción genera el metabolito **6-I.46** que se transforma en **6-I.47** por ataque nucleofílico sobre el fósforo con eliminación concomitante de fenol. El compuesto **6-I.47** se convierte en **6-I.48** que experimenta la eliminación de la parte de aminoácido para dar lugar al monofosfato **6-I.49**. Este intermedio es convertido en el difosfato **6-I.50** y luego en el trifosfato activo **PSI-7409** mediante la intervención de nucleótido quinasas.

<sup>13</sup> Murakami, E.; Tolstykh, T.; Bao, H.; Niu, C.; Steuer, H. M.; Bao, D.; Chang, W.; Espiritu, C.;M.; Bansal, S.; Lam, A. M.; Otto, M. J.; Sofia, M. J.; Furman, P. A. *J. Biol. Chem.* **2010**, *285*, 34337-34347.



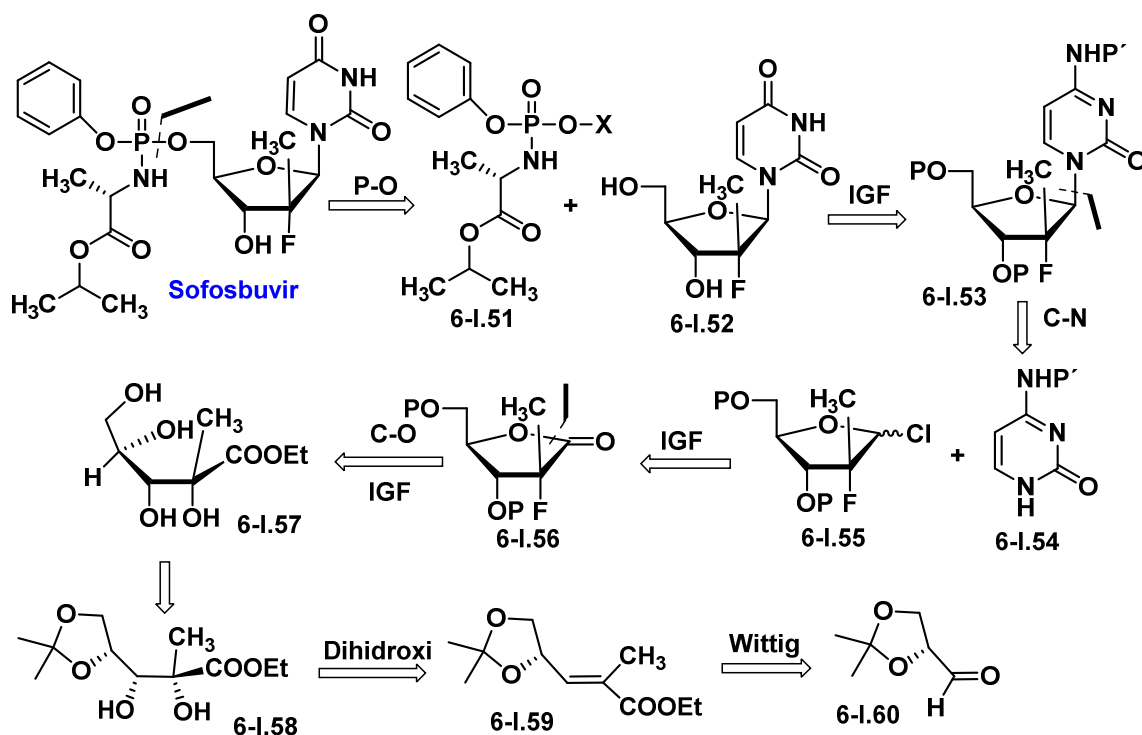


Esquema 6-I.16

### 6-I.6.3.a. Análisis retrosintético

El análisis retrosintético del sofosbuvir se indica en el esquema 6-I.17 y se inicia con la desconexión de la parte de fosforamida.<sup>14</sup> Esta operación genera la fosforamida **6-I.51** y el análogo de nucleósido **6-I.52**. El anillo de uracilo de este compuesto procede de un anillo de citosina en el intermedio **6-I.53**. Este compuesto se desconecta a la citosina *N*-protegida **6-I.54** y al clororiboglicósido **6-I.55**. Este compuesto se obtendrá de la ribonolactona **6-I.56** que por escisión de la función lactónica e intercambio del grupo funcional fluoruro por hidroxilo conduce al tetrahidroxiéster **6-I.57** que procederá de **6-I.58**. Los grupos hidroxilo se introducirán por reacción de dihidroxilación del éster conjugado **6-I.59** el cual se preparará mediante reacción de Wittig del isopropilidengliceraldehído **6-I.60**.

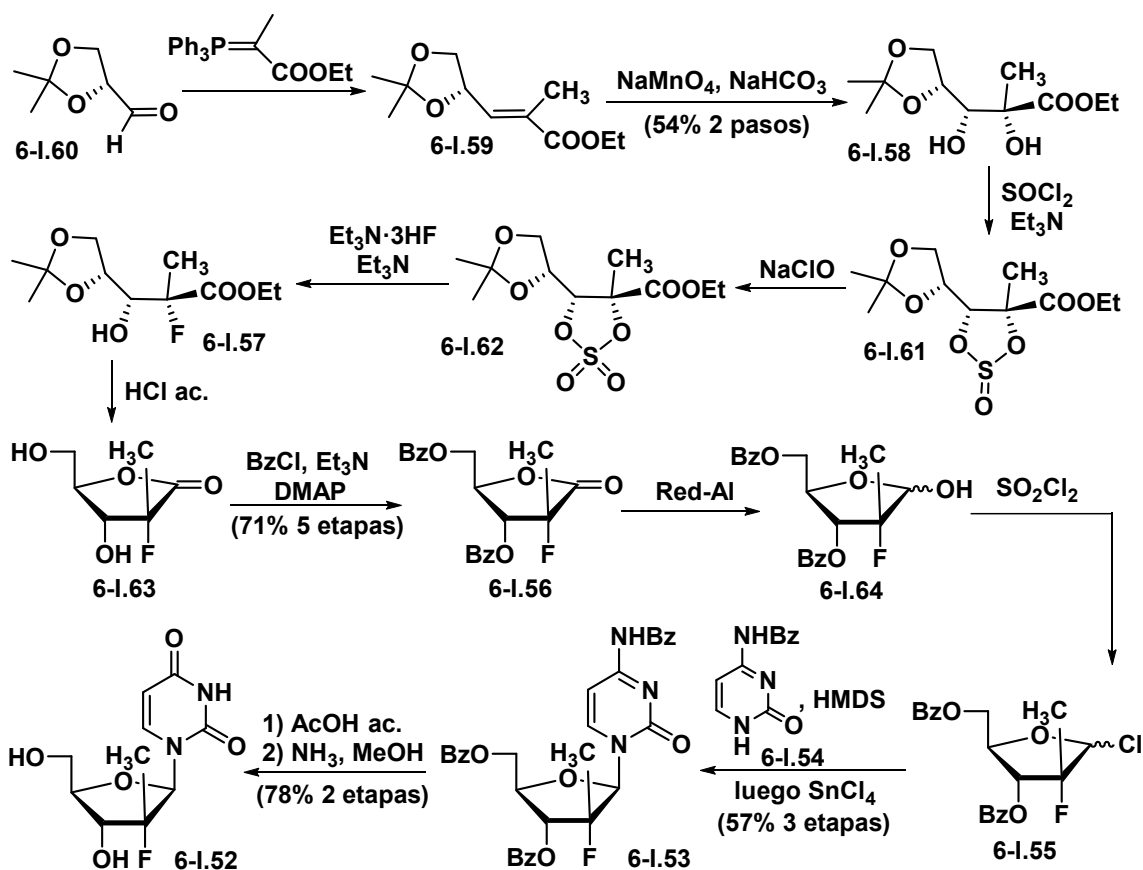
<sup>14</sup> Análisis retrosintético basado en las patentes US 2010/0298257 (US 12/783,680) y US 2011/0251152 (US 13/076,552). Véase: <http://www.allfordrugs.com/2013/12/10/us-approves-breakthrough-hepatitis-c-drug/>.



Esquema 6-I.17

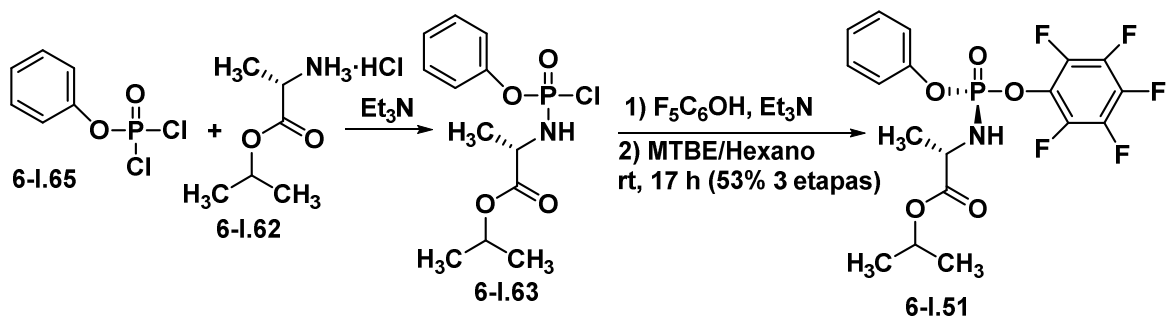
#### 6-I.6.3.b.1. Síntesis del nucleósido 6-I.52

La síntesis del nucleósido **6-I.54** se indica en el esquema 6-I.18 y se inició con la obtención del éster conjugado **6-I.59** por reacción de Wittig del D-isopropilidengliceraldehído **6-I.60**. La dihidroxilación estereoselectiva de este compuesto con permanganato sódico en acetona condujo al dihidroxiéster **6-I.58**. Cuando este compuesto se trató con cloruro de tionilo se obtuvo el sulfato cíclico **6-I.61** el cual se convirtió en el sulfato cíclico **6-I.62** por oxidación con hipoclorito sódico. La fluoración con trihidrofluoruro de trietilamina ( $\text{Et}_3\text{N}\cdot 3\text{HF}$ ) en presencia de trietilamina proporcionó el hidroxifluoroéster **6-I.57** que por tratamiento con ácido clorhídrico con centrado se transformó en la ribonolactona **6-I.63**. La benzoilación de los grupos hidroxilo condujo al compuesto **6-I.56**. Cuando este compuesto se trató con Red-Al (bis(2-metoxietoxialuminihidruro sódico) se obtuvo el glicol **6-I.64** que se transformó en el clorglicósido **6-I.55** por reacción con cloruro de sulfurilo en presencia de una cantidad catalítica de bromuro de tetra-*n*-butilamonio. Para la síntesis del nucleósido 6-I.53 se procedió en primer lugar a la generación de la *O*-trimetilsilil-N4-benzoilcitosina mediante sililación de la N4-benzoilcitosina **6-I.54** con hexametildisilazano. La reacción del clorglicósido **6-I.55** con la *O*-trimetilsilil-N4-benzoilcitosina en presencia de cloruro estánnico condujo al nucleósido **6-I.53**. El nucleósido de uridina **6-I.52** se obtuvo por reacción de **6-I.53** con ácido acético seguida de amonólisis metanólica.



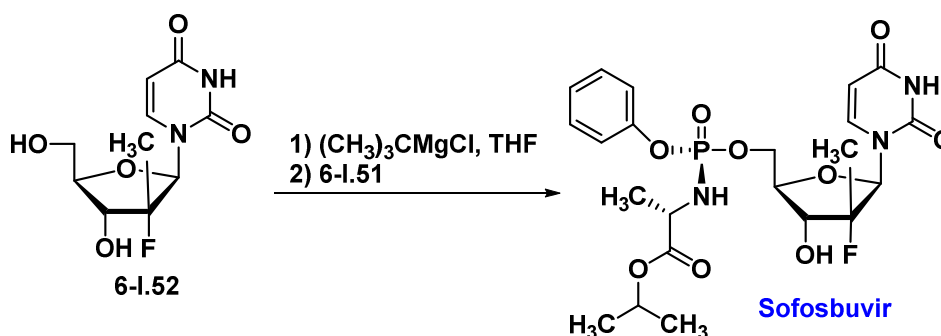
### 6-I.6.3.b.2. Síntesis de la fosforamida 6-I.51

La síntesis de la fosforamida **6-I.51** se inició con la reacción del diclorofosfato de fenilo **6-I.65** con el clorhidrato del isopropiléster de la alanina **6-I.62** (esquema 6-I.19). La reacción se llevó a cabo en presencia de trietilamina y proporcionó la clorofosforamida **6-I.63**. Cuando este compuesto se trató con pentafluorofenol se obtuvo la fosforamida **6-I.51** como mezcla de diastereoisómeros. El aislamiento del isómero Sp se consiguió mediante cristalización dinámica inducida en una mezcla de 20% de metil *t*-butil éter en hexano a temperatura ambiente.



### 6-I.6.3.b.3. Pasos finales

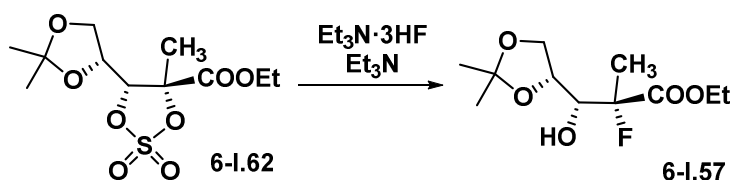
La secuencia final que permitió obtener el sofosbuvir se indica en el esquema 6-I.20 y consistió en la ionización del nucleósido de uridina **6-I.52**, por tratamiento con cloruro de *t*-butilmagnesio en THF, seguida reacción con la fosforamida **6-I.51**.



Esquema 6-I.20

### 6-I.6.3.c. Cuestiones

1) Proponga un mecanismo para la siguiente reacción:



### 6-I.6.4. Ledipasvir

El ledipasvir es un inhibidor específico de la proteína NS5A del VHC. La FDA aprobó en octubre de 2014 el empleo del ledipasvir, en combinación con sofosbuvir, para el tratamiento de la hepatitis C.

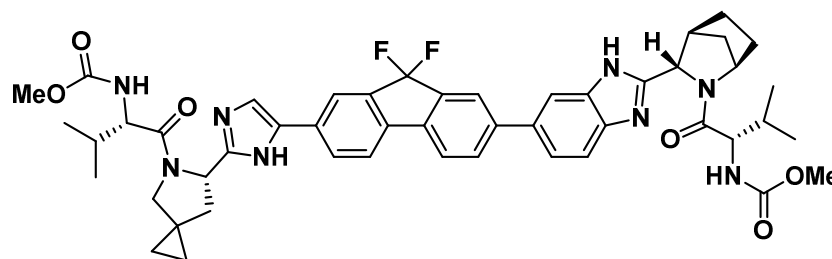


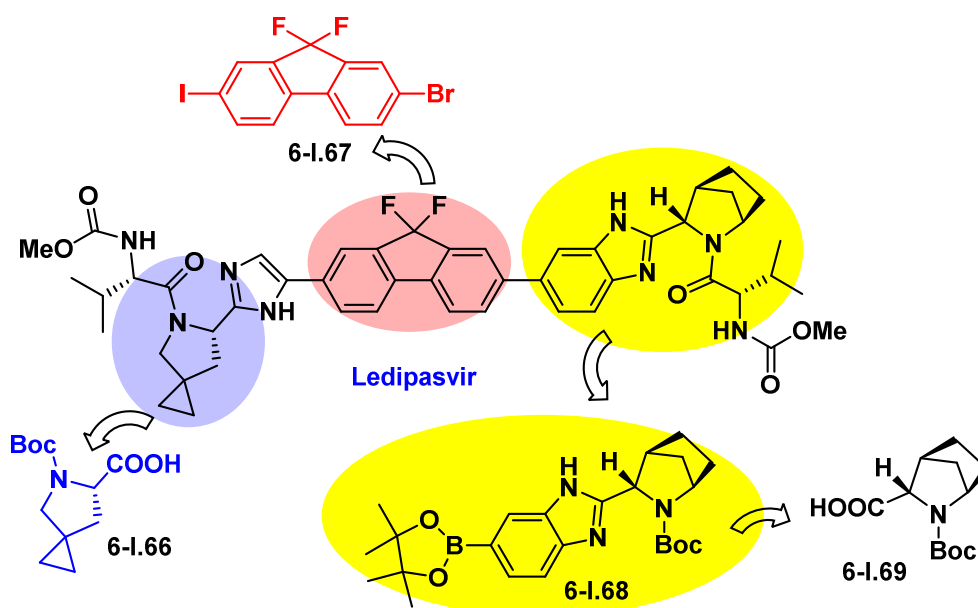
Figura 6-I.9. Estructura del ledipasvir

#### 6-I.6.4.a. Análisis retrosintético

En el esquema 6-I.21 se indica una desconexión del ledipasvir basada en la síntesis de este antiviral que se describe en la publicación de J. O. Link y colaboradores.<sup>15</sup> Los principales bloques

<sup>15</sup> Link, J. O.; Taylor, J. G.; Xu, L.; Mitchell, M.; et al. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 2033-2046.

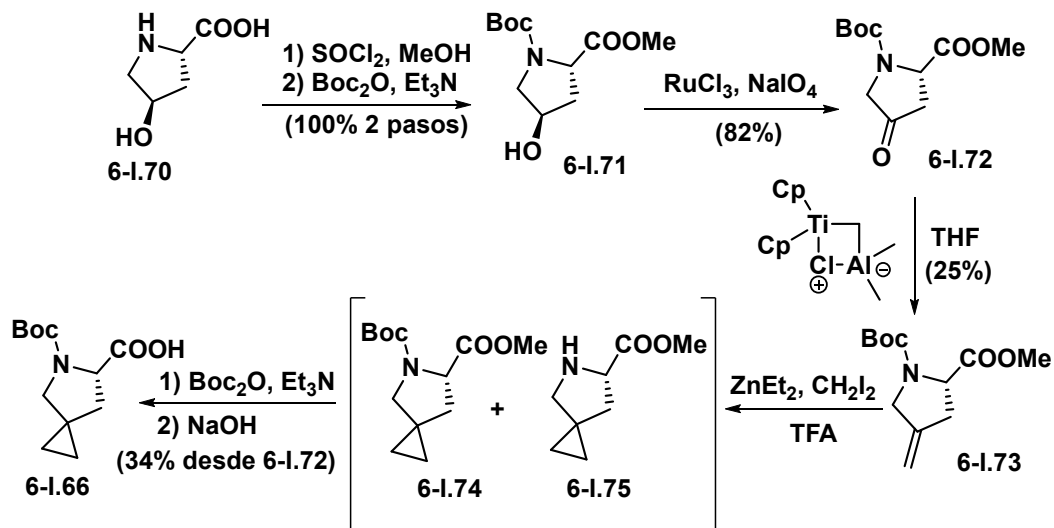
de construcción del ledipasvir son la ciclopropilprolina **6-I.66**, el tetrahalofluoreno **6-I.67** y el boronato **6-I.68** que, a su vez, se preparará a partir del bicicloaminoácido **6-I.69**.



Esquema 6-I.21

#### 6-I.6.4.b.1. Síntesis de la ciclopropilprolina **6-I.66**

En el esquema 6-I.22 se indica una síntesis de la ciclopropilprolina **6-I.66** tomada de la publicación de Grygorenko y colaboradores.<sup>16</sup> El compuesto de partida es la (2*S*,4*R*)-2-hidroxi-prolina **6-I.70** que se esterificó mediante reacción con cloruro de tionilo en metanol y se protegió en el átomo de nitrógeno por reacción con  $\text{Boc}_2\text{O}$  y trietilamina para dar el compuesto **6-I.71**.



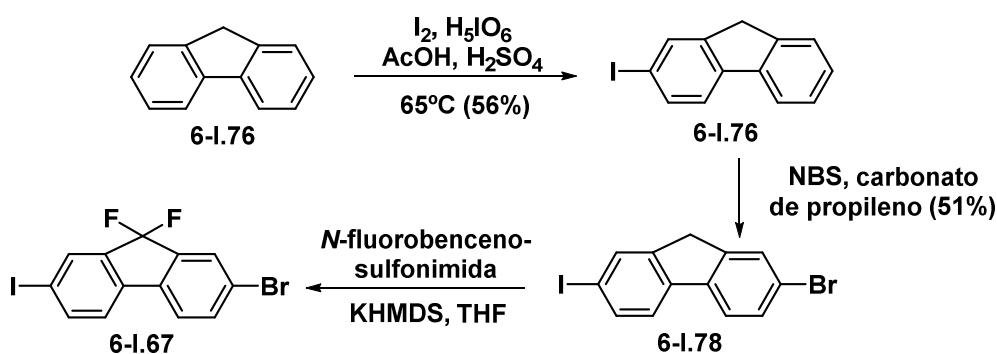
Esquema 6-I.22

<sup>16</sup> Tymsunik, A. V.; Bilenko, V. A.; Ivon, Y. M.; Grygorenko, O. O.; Komarov, I. V. *Tetrahedron Lett.* **2012**, *53*, 3847-3849.

El compuesto resultante **6-I.71** se oxidó con tricloruro de rutenio y metaperyodato sódico a la cetona **6-I.72**. Cuando este compuesto se sometió a la reacción de Wittig con el metilentrifenilfosforano se obtuvo el compuesto de metilénación pero con racemización del centro estereogénico. La metilénación, con preservación de la integridad estereoquímica del centro estereogénico en alfa al grupo metoxicarbonilo, se consiguió mediante reacción con el reactivo de Tebbe ( $C_5H_5)_2TiCH_2ClAl(CH_3)_2$  y proporcionó el compuesto **6-I.73**. La ciclopropanación de Simmons-Smith con  $ZnEt_2/CH_2I_2$ , en presencia de ácido trifluoroacético para acelerar el proceso, proporcionó el correspondiente producto de ciclopropanación **6-I.74** junto con el producto de *N*-Boc desprotección **6-I.75**. La reacción de la mezcla con  $Boc_2O$  y trietilamina seguida de saponificación permitió la obtención de la ciclopropilprolina **6-I.66**.

#### 6-I.6.4.b.2. Síntesis del tetrahalofluoreno 6-I.67

La síntesis del tetrahalofluoreno **6-I.67** se inició con la yodación del fluoreno **6-I.76** mediante reacción con yodo en presencia de ácido periódico, ácido acético y ácido sulfúrico, lo que permitió la obtención del compuesto **6-I.77** (esquema 6-I.23). La bromación con *N*-bromosuccinimida en carbonato de propileno condujo al 2-bromo-7-yodo-9*H*-fluoreno **6-I.78**.<sup>17</sup> La ionización de este compuesto con bis(trimetilsilil)amiduro de potasio (KHMDS) seguida de fluoración electrofílica con *N*-fluorobencenosulfonimida<sup>15</sup> proporcionó el 2-bromo-9,9-difluoro-7-yodo-9*H*-fluoreno **6-I.67**.



Esquema 6-I.23

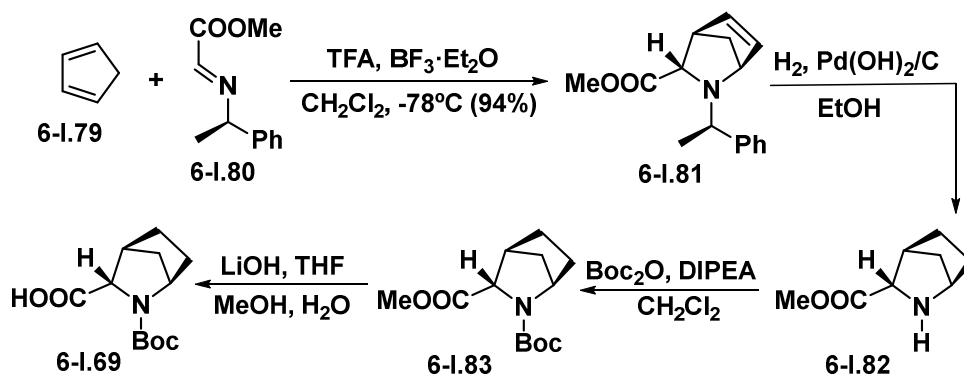
#### 6-I.6.4.b.3. Síntesis del bicicloaminoácido 6-I.69

La síntesis del bicicloaminoácido **6-I.69** comenzó con la reacción de cicloadición aza-Diels-Alder entre el ciclopentadieno **6-I.79** y la imina **6-I.80**, obtenida por condensación de (*R*)-1-feniletan-1-amina con el glioxilato de metilo (esquema 6-I.24). La reacción se llevó a cabo en presencia de ácido trifluoroacético y del eterato de trifluoruro de boro y proporcionó diastereoselectivamente (total selectividad facial y hasta 98% de selectividad *exo*) y de manera casi cuantitativa el 3-*exo*-carbometoxi-*N*- $\alpha$ -metilbencil-2-aza-5-norbornene **6-I.81**.<sup>18</sup> La hidrogenación/hidrogenólisis de este compuesto condujo al éster azabíclico **6-I.82**. El átomo de nitrógeno se protegió mediante reacción con  $Boc_2O$  en presencia de diisopropil etil amina y el

<sup>17</sup> Li, Z.; Li, Y.; Pritchett, T. M.; Makarov, N. S.; Haley, J. E.; Li, Z.; Drobizhev, M.; Rebane, A.; Sun, W. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 2479-2491.

<sup>18</sup> Stella, L.; Abraham, H.; Feneau-Dupont, J.; Tinant, B.; Declercq, J. P. *Tetrahedron Lett.* **1990**, 2603-2606.

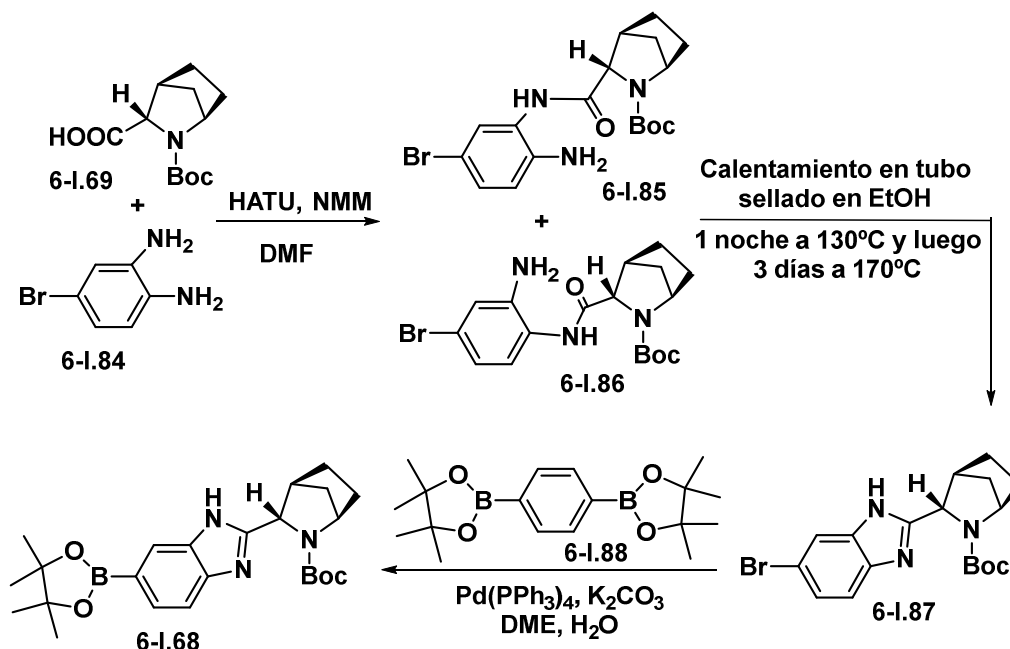
producto resultante, compuesto **6-I.83**, se convirtió en el bicicloaminoácido **6-I.69** mediante saponificación con hidróxido de litio.<sup>15</sup>



Esquema 6-I.24

#### 6-I.6.4.b.4. Síntesis del boronato 6-I.68

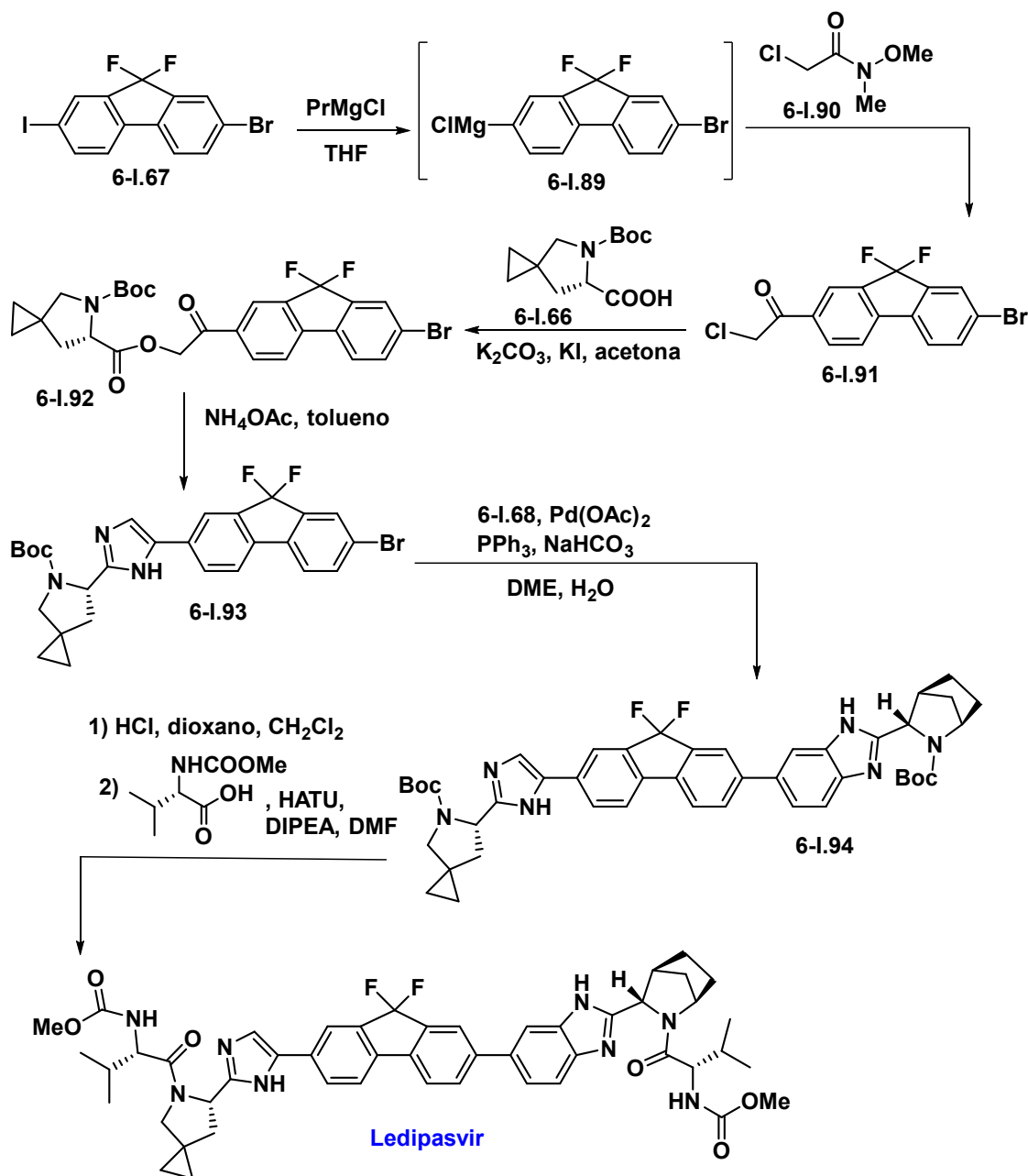
La síntesis del boronato **6-I.68** se inició con la reacción de acoplamiento de tipo peptídico entre el bicicloaminoácido **6-I.69** y la 4-bromobenceno-1,2-diamina **6-I.84**. La reacción se llevó a cabo en presencia del hexafluorofosfato de (1-[bis(dimetilamino)metileno]-1H-1,2,3-triazolo[4,5-b]piridinio-3-óxido) (HATU) y de *N*-metilmorfolina (NMM) en DMF (esquema 6-I.25). Este proceso condujo a la formación de la mezcla de amidas regioisoméricas **6-I.85** y **6-I.86** que se convirtieron en el benzimidazol **6-I.87** mediante calentamiento en etanol en tubo sellado. La reacción de Suzuki entre el compuesto **6-I.87** y el bis-pinacol éster del ácido 1,4-bencenodiborónico **6-I.88** permitió la obtención del boronato **6-I.68**.<sup>15</sup>



Esquema 6-I.25

### 6-I.6.4.b.5. Pasos finales

Los pasos finales en la síntesis del ledipasvir se indican en el esquema 6-I.26 y se iniciaron con la metalación quimioselectiva del tetrahalofluoreno **6-I.67** por reacción con bromuro de propilmagnesio, lo que generó el organomagnesiano **6-I.89**. La adición de la amida de Weinreb **6-I.90** sobre el magnesiano proporcionó la cloroacetona **6-I.91** que por alquilación con el aminoácido **6-I.66** se convirtió en el cetoéster **6-I.92**.



Esquema 6-I.26

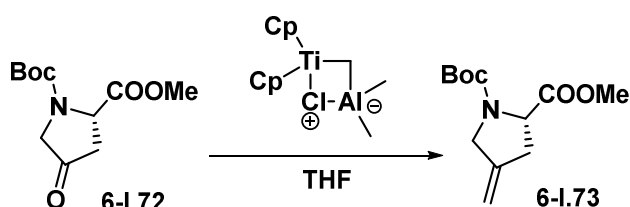
La ciclocondensación de **6-I.92** con acetato amónico mediante calentamiento en tolueno condujo al bromofluorenilimidazol **6-I.93**. El acoplamiento de Suzuki entre este compuesto y el boronato **6-I.68** se llevó a cabo con acetato de paladio y tetrakis-trifenilfosfina, en presencia de



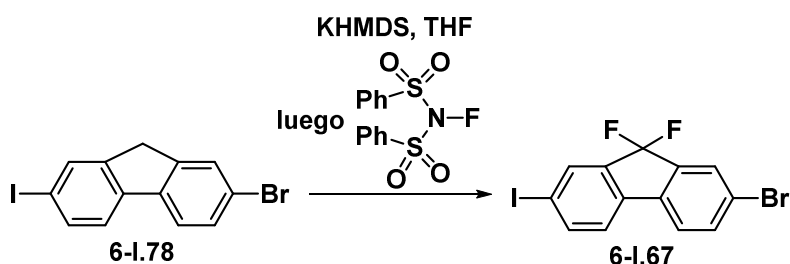
bicarbonato sódico en una mezcla de dimetoxietano-agua, y proporcionó el compuesto **6-I.94**. El tratamiento con HCl provocó la eliminación de los grupos Boc y el compuesto resultante se sometió a reacción de acoplamiento peptídico con el metil carbamato de la valina en presencia de HATU y diisopropil etil amina, lo que proporcionó el ledipasvir.

#### 6-I.6.4.c. Cuestiones

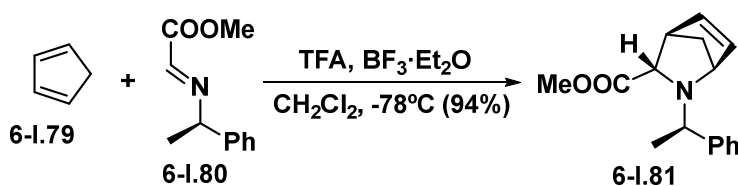
1) Explique mecanísticamente la reacción de metilación de **6-I.72** con el reactivo de Tebbe:



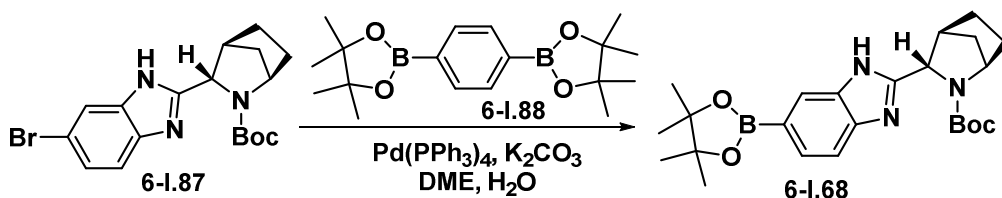
2) Explique mecanísticamente la reacción de fluoración de **6-I.78** con *N*-fluorobencenosulfonimida:



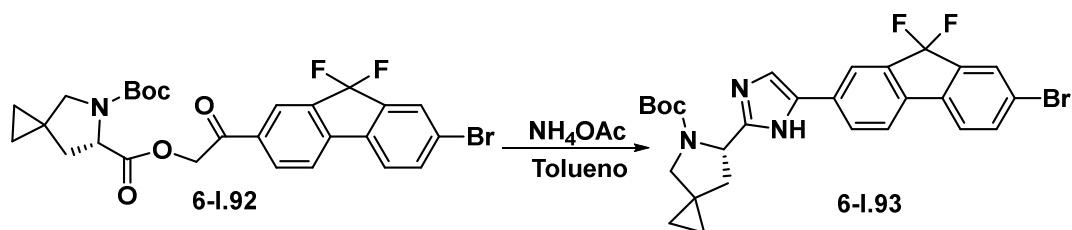
3) Para la reacción aza-Diels-Alder entre el ciclopentadieno **6-I.79** y la imina quiral **6-I.80**, y sabiendo que la reacción transcurre con selectividad *exo*, dibuje la orientación de estos dos reactivos que explique la formación del aducto **6-I.81**.



4) Explique mecanísticamente la reacción de acoplamiento de tipo Suzuki-Miyaura que permite la obtención del boronato **6-I.68**.



5) Proponga un mecanismo que explique la formación del anillo de imidazol en el compuesto **6-I.93** por calentamiento del cetoéster **6-I.92** con acetato amónico.



### 6-I.6.5. Simeprevir

El simeprevir se emplea en el tratamiento de la hepatitis C en combinación con peginterferón-alfa pegilado y ribavirina o en combinación con sofosbuvir. El simeprevir actúa mediante inhibición de la serina proteasa NS3/4A del virus de la hepatitis C. En análisis bioquímicos ha demostrado inhibir también la actividad de las proteasas NS2/4A del VHC recombinante de los genotipos 1a y 1b, con valores de  $K_i$  de 0,5 nM y 1,4 nM, respectivamente.

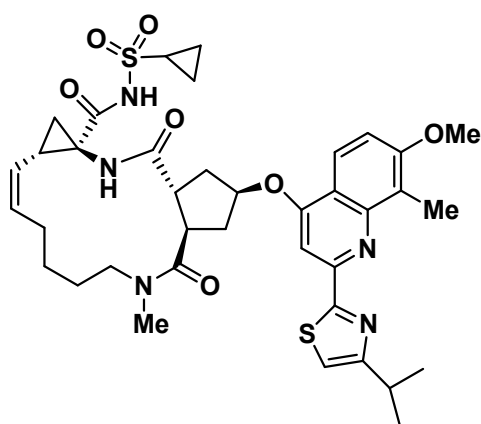
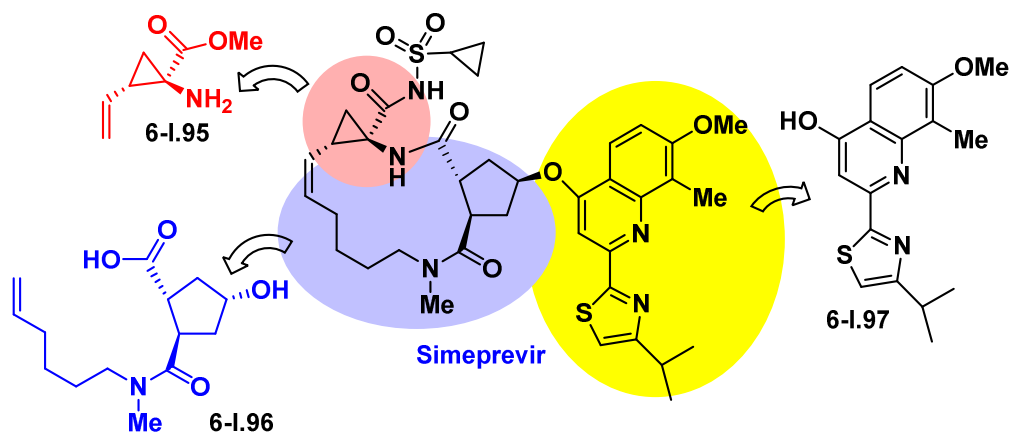


Figura 6-I.10. Estructura del simeprevir

#### 6-I.6.5.a. Análisis retrosintético

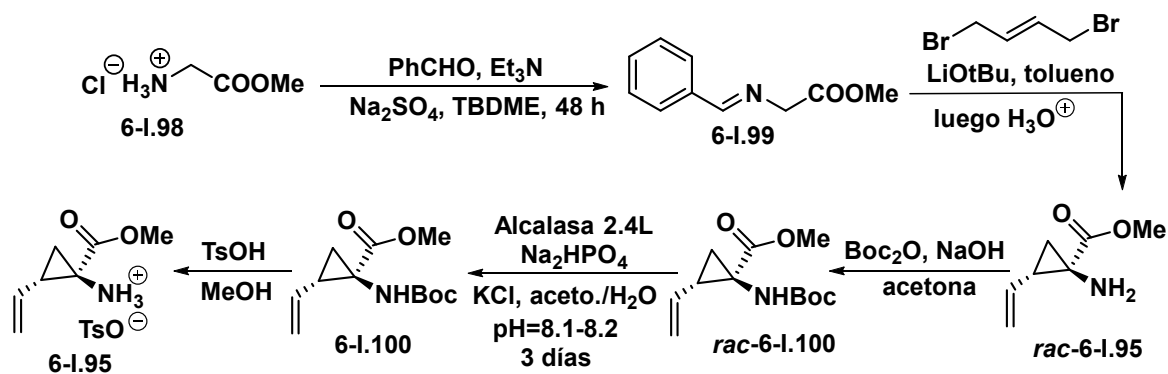
Los principales bloques de construcción empleados en la síntesis del simeprevir son el aminoéster ciclopropánico **6-I.95**, el ácido hidroxiamidociclopentanocarboxílico **6-I.96** y el quinolin-tiazol **6-I.97** (esquema 6-I.27).



Esquema 6-I.27

### 6-I.6.5.b.1. Síntesis del aminoéster ciclopropánico 6-I.95

Para la síntesis del aminoéster ciclopropánico **6-I.95** se eligió como compuesto de partida el clorhidrato del glicinato de metilo **6-I.98**. Este compuesto se convirtió en la imina **6-I.99** por reacción con benzaldehído en presencia de trietilamina y de sulfato sódico como desecante del agua de reacción.<sup>19</sup> La ionización de la imina con *t*-butoxido de litio en tolueno, seguida de reacción con (*E*)-1,4-dibromobut-2-eno, proporcionó, después de la hidrólisis ácida, el aminoéster ciclopropánico **6-I.95** en su forma racémica. Este compuesto se convirtió en el *N*-Boc derivado **rac-6-I.100** el cual se sometió a la reacción de hidrólisis enzimática con la esterasa Alcalasa 2.4L. Esta reacción proporcionó el (1*R*,2*S*)-1-amino-2-vinilciclopropano-1-carboxilato de metilo *N*-Boc protegido **6-I.100** con >97% ee y el ácido (1*S*,2*R*)-1-amino-2-vinilciclopropano-1-carboxílico *N*-Boc protegido (no dibujado en el esquema) con >99% ee. La extracción de la mezcla con *t*-butil metil éter/hexano permitió la separación del aminoéster ciclopropánico del aminoácido ciclopropánico. La *N*-Boc desprotección del **6-I.100** con ácido *p*-tousensulfónico condujo al (1*R*,2*S*)-1-amino-2-vinilciclopropano-1-carboxilato de metilo en forma de sal de tosilato.



Esquema 6-I.28

### 6-I.6.5.b.2. Síntesis del ácido hidroxiamidociclopentanocarboxílico 6-I.96

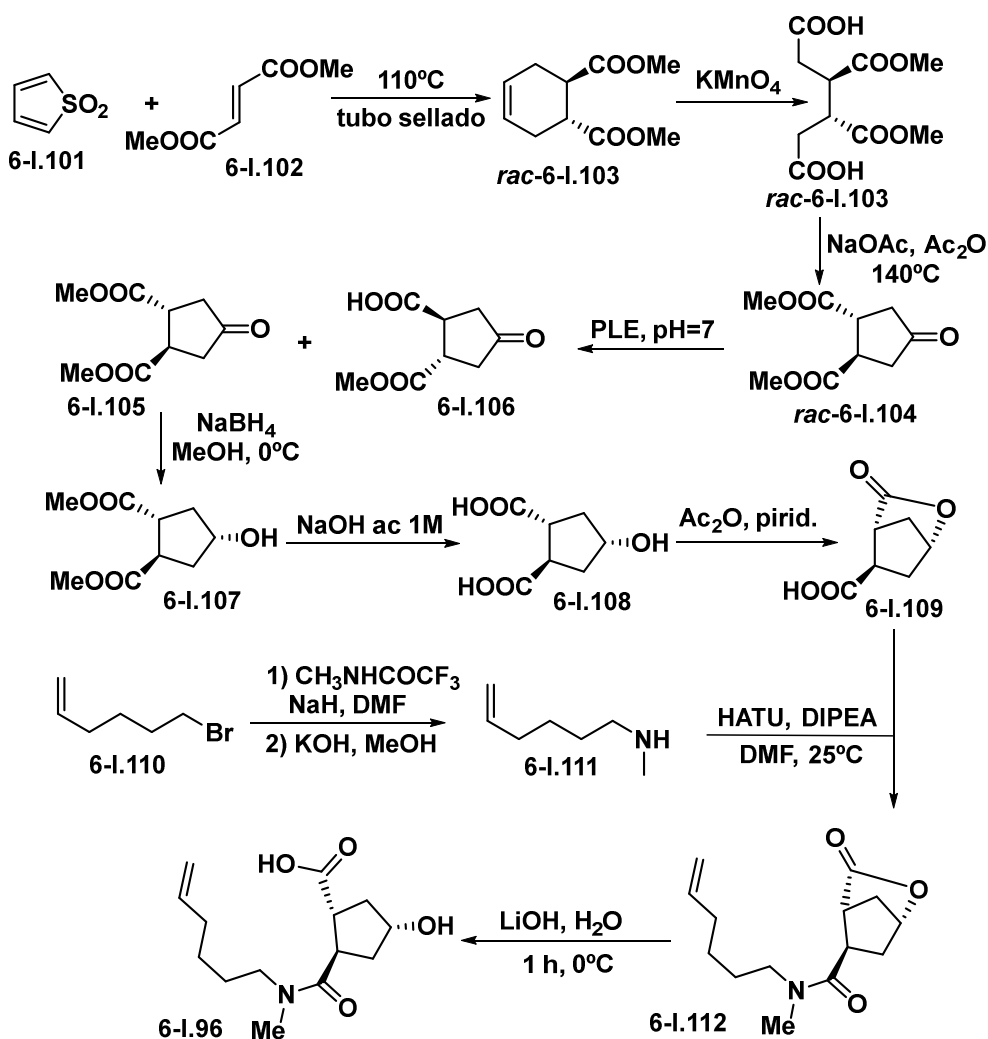
La síntesis del ácido hidroxiamidociclopentanocarboxílico **6-I.96** exigía la preparación enantioselectiva del ácido (1*R*,2*R*)-4-hidroxiciclopentano-1,2-dicarboxílico (compuesto **6-I.108** del esquema 6-I.29). La síntesis de este compuesto se inició con la reacción de cicloadición Diels-Alder del 3-sulfoleno **6-I.101** con el fumarato de dimetilo **6-I.102**.<sup>20</sup> Esta reacción proporcionó el ciclohex-4-eno-1,2-dicarboxilato de dimetilo en su forma racémica **rac-6-I.102**. La ruptura oxidante del doble enlace con permanganato potásico condujo al diácido **rac-6-I.103** que por calentamiento a 140°C en anhídrido acético en presencia de acetato sódico se convirtió en el 4-oxociclopentano-1,2-dicarboxilato de dimetilo **rac-6-I.104**. La separación de enantiómeros se llevó a cabo mediante hidrólisis enzimática con PLE (esterasa de hígado de cerdo) y proporcionó la mezcla constituida por el (1*R*,2*R*)-4-oxociclopentano-1,2-dicarboxilato de dimetilo **6-I.105** (>98% ee) y el ácido (1*S*,2*S*)-2-(metoxicarbonil)-4-oxociclopentano-1-carboxílico **6-I.106** (>98% ee).<sup>21</sup> La cromatografía de columna de la mezcla de reacción permitió el aislamiento del

<sup>19</sup> Beaulieu, P. L.; Gillard, J.; Bailey, M. D.; Boucher, C., et al. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 5869-5879.

<sup>20</sup> Sample, T. E.; Hatch, L. F. *Org. Synth.* **1970**, *50*, 43.

<sup>21</sup> Acher, F. C.; Tellier, F. J.; Azerad, R.; Brabet, I. N.; Fagni, L.; Pin, J-P. R. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 3119-3129.

compuesto **6-I.105** que por reducción con  $\text{NaBH}_4$  se convirtió en el ciclopentanol **6-I.107**. La saponificación seguida de reacción del diácido **6-I.108** con anhídrido acético en piridina proporcionó la lactona bicíclica **6-I.109**.<sup>22</sup>



Esquema 6-I.29

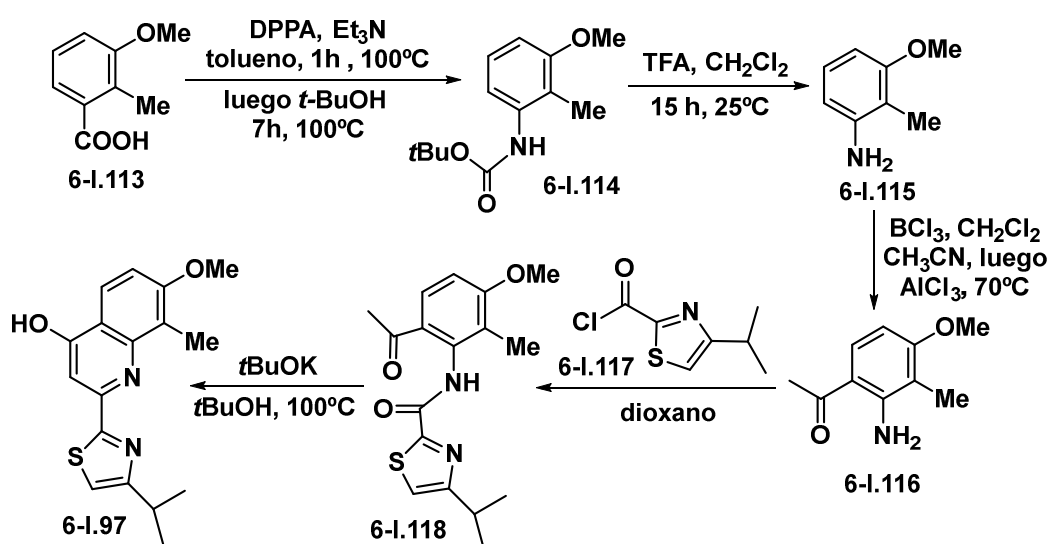
Por otro lado, la *N*-metiltrifluoroacetamida se ionizó con hidruro sódico y se *N*-alquiló con 6-bromohex-1-eno **6-I.110**. La hidrólisis básica de la correspondiente trifluoroacetamida condujo a la *N*-metilhex-5-en-1-amina **6-I.111**. La reacción de acoplamiento peptídico entre esta amina y la lactona **6-I.109** proporcionó la amido-lactona **6-I.112**, que se convirtió en el hidroxiamidociclopentanocarboxílico **6-I.96** por hidrólisis básica de la función lactónica.

### 6-I.6.5.b.3. Síntesis del quinolin-tiazol **6-I.97**

Para la síntesis del quinolin-tiazol **6-I.97** se eligió como compuesto de partida el ácido 3-metoxi-2- metilbenzoico **6-I.113**. Este compuesto se convirtió en el carbamato **6-I.114** mediante reacción de transposición de Curtius con difenilfosforilazida seguida de reacción del

<sup>22</sup> Johansson, P-O.; Bäck, M.; Kvarnström, I.; Jansson, K.; et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2006**, *14*, 5136-5151.

correspondiente isocianato con *t*-butanol (esquema 6-I.30).<sup>23</sup> La hidrólisis ácida de la función carbamato, mediante reacción con ácido trifluoroacético, condujo a la 3-metoxi-2-metilnilina **6-I.115**. La acetilación  $S_EAr$  de este compuesto se llevó a cabo del siguiente modo. A una disolución de  $BCl_3$  en  $CH_2Cl_2$  se le añadió, lentamente y bajo nitrógeno, una disolución de 3-metoxi-2-metilnilina en xileno y la mezcla de reacción se agitó a 5°C durante 0.5 h. Después se añadió acetonitrilo seco y la disolución resultante se transfirió a un embudo de adición y se goteó lentamente, a 5°C, sobre una suspensión de  $AlCl_3$  en  $CH_2Cl_2$  (150 ml). Después de 45 min a 5°C, la mezcla de reacción se calentó a 70°C bajo una corriente de nitrógeno. Después se evaporó el  $CH_2Cl_2$  y se subió la temperatura a 65°C y se mantuvo 12 h a esta temperatura. Luego la mezcla de reacción se enfrió a 0°C, se vertió sobre hielo y se calentó lentamente a reflujo durante 7 h. Después de 2 días a temperatura ambiente, se añadió NaOH 6 N hasta pH 2-3. La fase de xileno se decantó y la fase orgánica se extrajo con  $CH_2Cl_2$ . Las fases de xileno y  $CH_2Cl_2$  se combinaron y se lavaron sucesivamente con agua, con NaOH y salmuera. Después de secar y evaporar el disolvente se obtuvo la aril metil cetona **6-I.116**.<sup>23</sup> La reacción de acilación del grupo amino con el cloruro de 4-isopropiltiazol-2-carbonilo **6-I.117** condujo a la tiazolilamida **6-I.118** la cual, mediante calentamiento en *t*-butanol en presencia de *t*-butóxido de potasio, se convirtió en la 4-hidroxi-2-(4-isopropiltiazol-2-il)-7-metoxi-8-metilquinolina **6-I.97**.



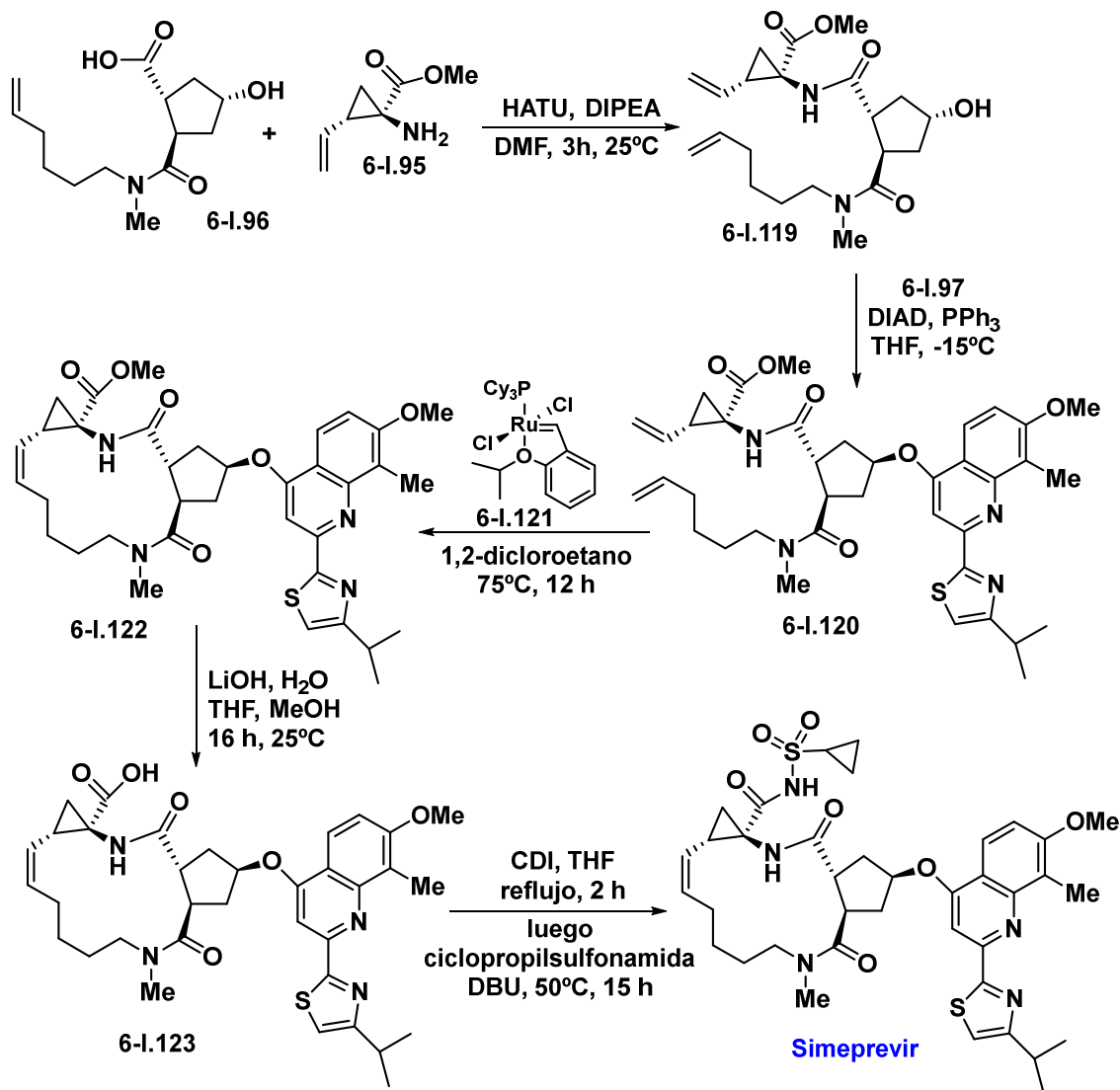
Esquema 6-I.30

#### 6-I.6.5.b.4. Pasos finales

Los pasos finales en la síntesis del simeprevir comenzaron con el acoplamiento peptídico entre el ácido hidroxiamidociclopentanocarboxílico **6-I.96** y el aminoéster ciclopropánico **6-I.95**. La reacción se llevó a cabo en DMF en presencia de HATU y de diisopropil etil amina y proporcionó la hidroxidiamida ciclopentánica **6-I.119** (esquema 6-I.31). La inversión de Mitsunobu entre este compuesto y el quinolin-tiazol **6-I.97** se consiguió mediante reacción con azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD) y trifetilfosfina en THF y condujo al compuesto **6-I.120**. Cuando este compuesto se calentó en 1,2-dicloroetano en presencia del catalizador de

<sup>23</sup> Patente WO2007/014926. Véase <https://newdrugapprovals.org/2013/11/26/fda-approves-olysio-simeprevir-for-hepatitis-c-virus/>

Grubbs-Hoveyda de 1<sup>a</sup> generación **6-I.121** se obtuvo el compuesto de metátesis intramolecular **6-I.122**. La saponificación quimioselectiva de la función éster condujo al ácido **6-I.123** que se convirtió en el simeprevir mediante reacción con carbonildimiazol, para formar el correspondiente anhídrido mixto, seguida de reacción con la ciclopropilsulfonamida y la base DBU.

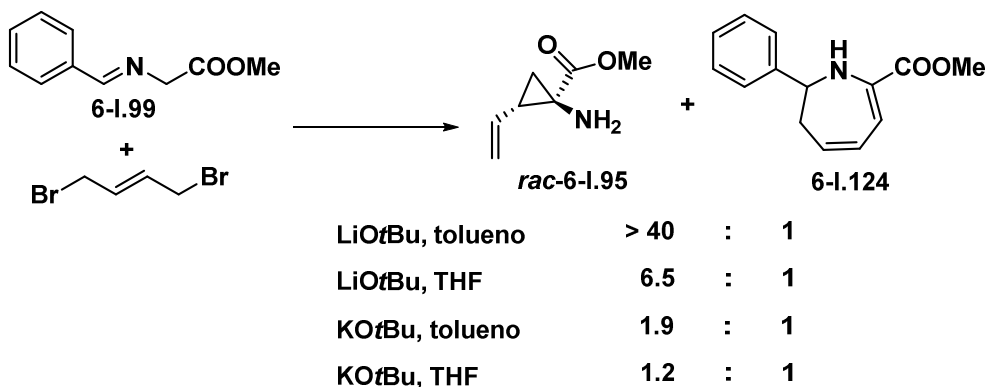


Esquema 6-I.31

### 6-I.6.5.c.Cuestiones

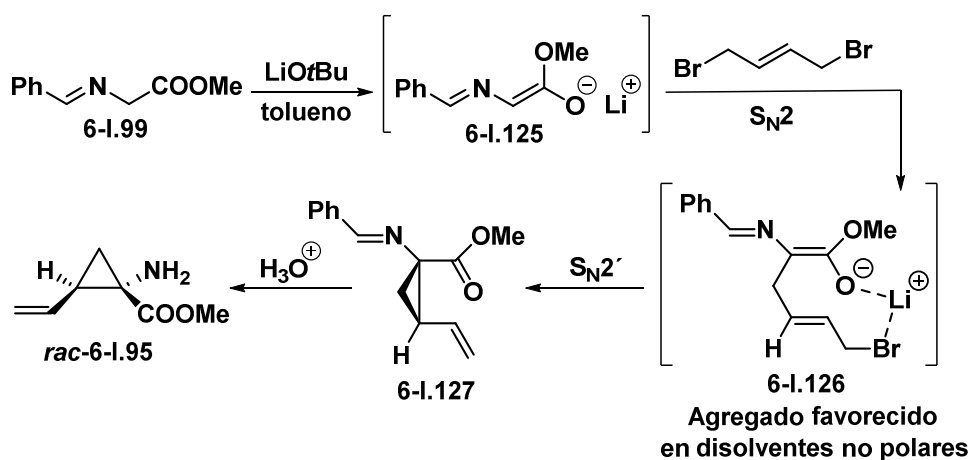
1) La estereoselectividad en la síntesis de aminoéster ciclopropánico *rac*-**6-I.95** depende de las condiciones de la reacción. De hecho la reacción forma una mezcla constituida por el aminoéster ciclopropánico *rac*-**6-I.95** y la azequina **6-I.124** (véase el esquema 6-I.32). La proporción de estos dos compuestos en la mezcla de reacción depende de la base empleada y del disolvente. La mayor proporción del compuesto *rac*-**6-I.95** se forma cuando se emplea *t*-butóxido de litio en tolueno y

la menor proporción cuando se emplea *t*-butóxido de potasio en tetrahidrofurano (véase el esquema 6-I.32).<sup>19,24</sup>



Esquema 6-I.32

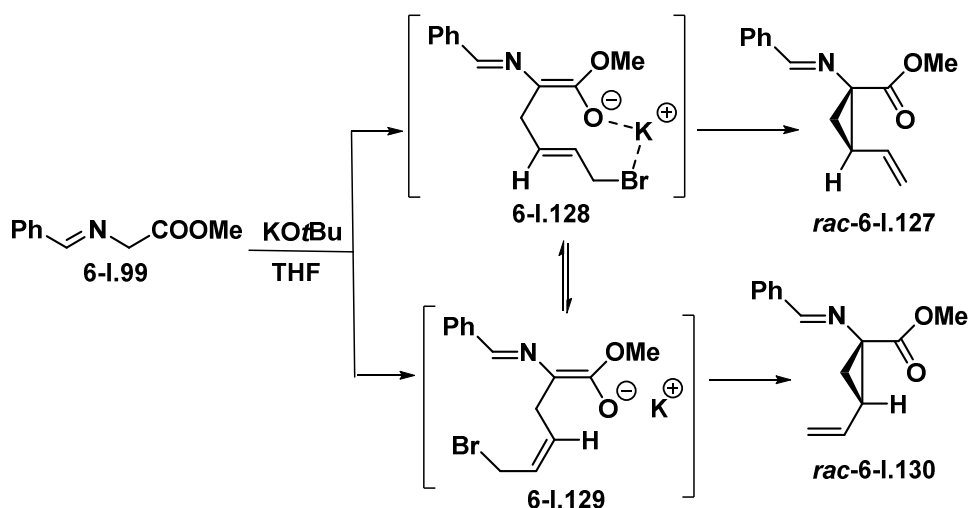
La explicación que se ha propuesto para la formación preferente de *rac*-**6-I.95** con *t*-butóxido de litio en tolueno es la siguiente (véase el esquema 6-I.33).<sup>19</sup> La ionización de la imina forma el enolato de litio **6-I.125** que ataca al (*E*)-1,4-dibromobut-2-eno mediante una reacción S<sub>N</sub>2. Este proceso forma muy preferentemente, en un disolvente muy poco polar como el tolueno, el agregado de litio **6-I.126**. La reacción de tipo S<sub>N</sub>2' intramolecular forma el compuesto ciclopropánico **6-I.127** con el grupo vinilo en *cis* con respecto al grupo éster. La hidrólisis ácida de la función imina proporciona el aminoéster ciclopropánico *rac*-**6-I.95**.



Esquema 6-I.33

Cuando la reacción se lleva a cabo en THF (disolvente más polar que el tolueno) y con *t*-butóxido de potasio como base, que aporta un catión más voluminoso que el catión litio y, por tanto, con menor tendencia a formar agregados, el agregado **6-I.128** entra en equilibrio con el agregado **6-I.129**. La presencia de este agregado permite una nueva vía de reacción que conduce a la formación del aminoéster ciclopropánico *rac*-**6-I.130** con el grupo vinilo en *trans* con respecto al grupo éster, tal y como se indica en el esquema 6-I.34.

<sup>24</sup> En la cita 19, de la cual se han tomado los datos que se indican en el esquema 6-I.32, la imina empleada es la derivada del glicinato de etilo.

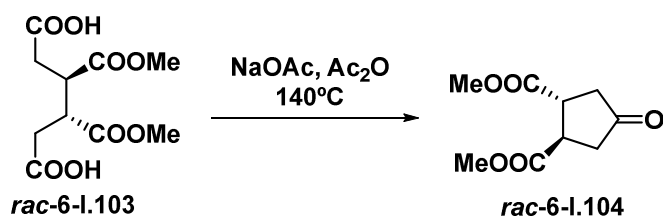


Esquema 6-I.34

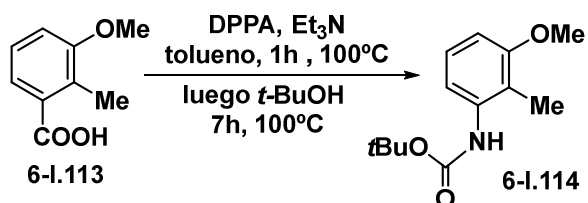
La reacción con *t*-butóxido de potasio en THF se para por adición de agua y extracción con *t*-butil metil éter (TBME). La fase orgánica se acidifica con HCl acuoso para provocar la hidrólisis de la imina y luego se añade TBME. La fase acuosa ácida se separa, se alcaliniza hasta pH 12-13 y se extrae con TBME para aislar el aminoéster ciclopropanico *rac*-6-I.95. Por otro lado, la fase orgánica, proveniente de la adición de TBME a la hidrólisis ácida, se lava secuencialmente con una disolución acuosa de HCl y con salmuera. Después de secar con sulfato sódico, evaporar el disolvente y cromatografiar se obtiene la azepina 6-I.124 (véase el esquema 6-I.32).

Proponga un mecanismo que explique la formación de la azepina 6-I.124.

2) Explique mecanísticamente la conversión del diácido *rac*-6-I.103 en la ciclopentanona *rac*-6-I.104.

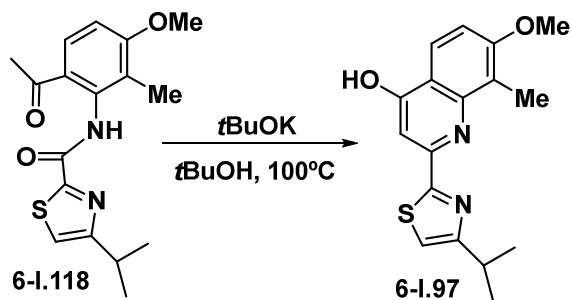


3) Explique mecanísticamente la conversión del ácido 6-I.113 en el carbamato 6-I.114.

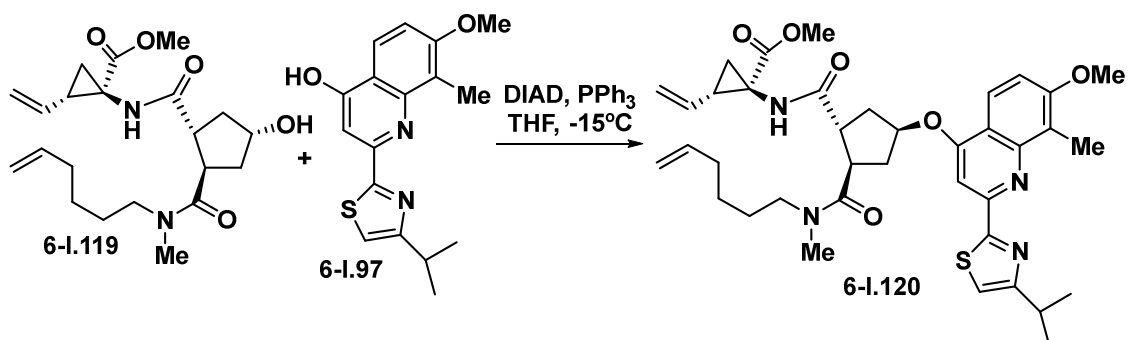


4) Proponga una explicación mecanística para la formación del anillo de quinolina de 6-I.97 por reacción de 6-I.118 con *t*-butóxido de potasio en *t*-butanol.





5) Explique mecanísticamente la formación del compuesto **6-I.120** por reacción de **6-I.119** con **6-I.97** en presencia de azodicarboxilato de diisopropilo (DIAD) y trifenilfosfina.



6) Dibuje los dos primeros ciclos catalíticos en la reacción de metátesis intramolecular en presencia del catalizador de Grubbs-Hoveyda que permite la conversión del compuesto **6-I.120** en **6-I.122**.

