Giuseppe Barreca[a], Luca Carcone[a], Elena Cini[b], Giovanni Marras[a], Marcello Rasparini[a], Adele Russo[b], Maurizio Taddei[b]*
[a]Chemessentia Srl
Novara
**marcello.rasparini@chemessentia.it*
[b]Dipartimento di Biotecnologie, Chimica e Farmacia
Università di Siena
maurizio.taddei@unisi.it

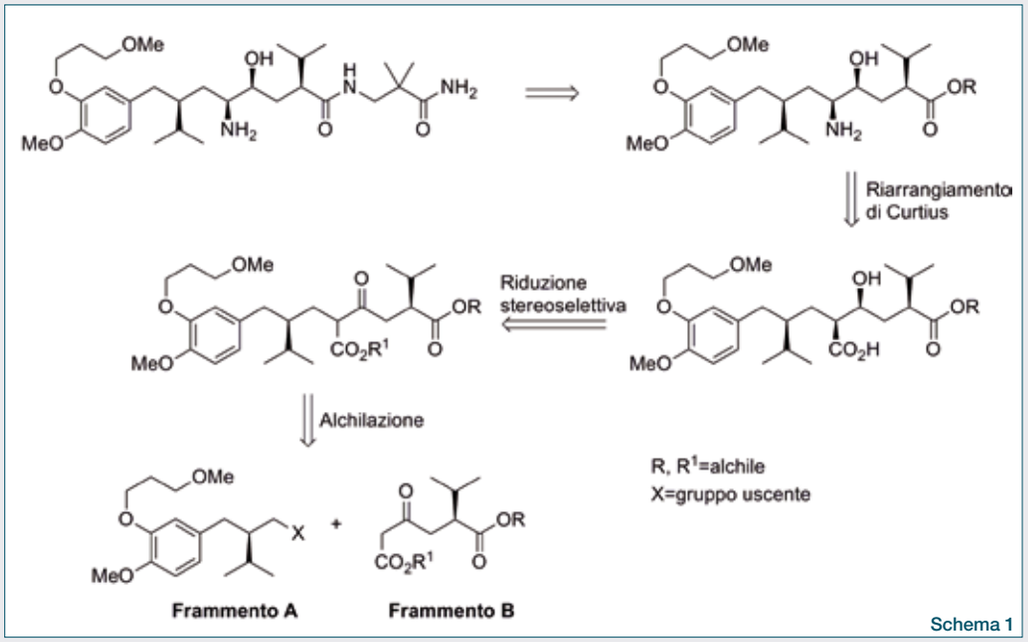
SVILUPPO DI UN NUOVO PROCESSO PER LA SINTESI DI ALISKIREN

Si descrive una sintesi dell'antiipertensivo di nuova generazione Aliskiren (Novartis) [1, 2]. Questo processo innovativo è caratterizzato da un'idrogenazione asimmetrica che controlla simultaneamente 2 dei 4 centri chirali e da un uso strategico del riarrangiamento di Curtius.

Aliksiren è un antiipertensivo di nuova generazione sviluppato da Novartis, venduto con il nome commerciale di Rasilez o Tekturna ed approvato dall'FDA negli Stati Uniti e dall'EMEA in Europa nel 2007. È il primo di una nuova classe di farmaci antiipertensivi attivi per via orale, chiamati inibitori diretti della renina [3]. La renina è il primo enzima del sistema renina-angiotensina-aldosterone (RAAS), sistema ormonale che controlla la funzione cardiovascolare e renale regolando la pressione sanguigna e il bilancio dei fluidi corporei. La renina è una proteasi aspartica che agisce a monte (il primo step e fattore limitante del RAAS) e che converte l'angiotensinogeno nella angiotensina I, idrolizzando il legame peptidico Leu10-Val11. L'angiotensina I viene quindi convertita nell'ottapeptide vasoattivo angiotensina II ad opera del *angiotensin-converting enzyme* (ACE), presente nei polmoni. L'angiotensina II attiva i recettori per l'angiotensina II AT_1, producendo un aumento della pressione sanguigna: l'angiotensina II agisce a livello dei vasi, causando vasocostrizione, ed a livello della ghiandola surrenale stimolando la secrezione di aldosterone (che aumenta il riassorbimento del sodio e quindi di acqua a livello dei tubuli renali, con conseguente aumento del volume plasmatico e della pressione sanguigna).

Molti farmaci antiipertensivi già presenti sul mercato agiscono a vari livelli del sistema RAAS: gli ACE inibitori (es. Captopril) interferiscono con la conversione dell'angiotensina I in angiotensina II; gli antagonisti del recettore dell'angiotensina II (es. Losartan) bloccano l'attivazione dei recettori AT_1.
I potenziali vantaggi ed i minori effetti collaterali di Aliskiren sono dati dalla sua azione "a monte" del sistema RAAS e dalla specificità della renina. L'angiotensinogeno è l'unico substrato fisiologico noto della renina. Per contro l'enzima ACE, oltre all'attività descritta nel sistema RAAS, degrada la bradichinina ed altri peptidi vasoattivi. Gli ACE inibitori portano quindi ad un accumulo di questi peptidi, causa di alcuni dei principali effetti collaterali di questi farmaci, come tosse ed angioedema.
Inoltre la secrezione di renina è regolata da un meccanismo a feedback: in risposta ad un aumento della pressione sanguigna e dei livelli di angiotensina II si ha una minore secrezione di renina.
Tutte le varie classi di farmaci antiipertensivi sopra descritti, abbassando la pressione, portano quindi ad un aumento della concentrazione plasmatica della renina, ma solo con l'assunzione di Aliskiren si ha la concomitante diminuzione dell'attività reninica plasmatica, dovuta al blocco del *cleavage* dell'angiotensinogeno.

Questo contributo è stato presentato al XXXIV Convegno della Divisione di Chimica Organica della SCI, Pavia, 10-14 settembre 2012.



Schema 1

Chemessentia è un'azienda che fa parte del gruppo multinazionale Chemo, produttore di principi attivi farmaceutici generici (APIs) e di farmaci formulati. Chemessentia si occupa in particolare della ricerca chimica sui "nuovi" APIs, con lo scopo di mettere a punto vie di sintesi originali, industrializzabili ed economicamente convenienti degli stessi. Nel settore dei farmaci generici spesso le sintesi impiegate dagli "originators" sono protette da brevetti con scadenza posteriore al brevetto che protegge la molecola come tale. In questa evenienza, semplificando, il genericista in possesso di una sintesi proprietaria può vendere l'API alla scadenza del brevetto di prodotto con un considerevole vantaggio commerciale sulla concorrenza.

Dato il grande interesse suscitato dall'introduzione sul mercato di Aliskiren, a Chemessentia è stato assegnato il difficile compito di trovare una sintesi innovativa, industrializzabile, e diversa da tutte le sintesi note in letteratura e brevettate (attualmente più di 50).

La via di sintesi praticata da Novartis [4] è molto efficiente e convergente: questo implica che una sintesi innovativa per la versione generica del prodotto deve essere competitiva per quanto riguarda il costo delle materie prime, l'occupazione degli impianti, l'occupazione della mano d'opera necessaria e la quantità di reflui prodotti.

Una tipica azienda produttrice di principi attivi generici non potrebbe permettersi l'impegno di tutte le sue risorse R&D in un progetto estremamente complesso e dall'esito incerto come quello della ricerca di una nuova via di sintesi per Aliskiren. Le collaborazioni azienda-università permettono però di espandere in modo virtuale la capacità di ricerca dell'azienda stessa in modo flessibile e apportano conoscenze e tecnologie ad entrambe le parti in modo estremamente proficuo. Per questo motivo, fin dalle fasi iniziali il lavoro si è svolto attraverso una stretta collaborazione tra Chemessentia e l'Università di Siena.

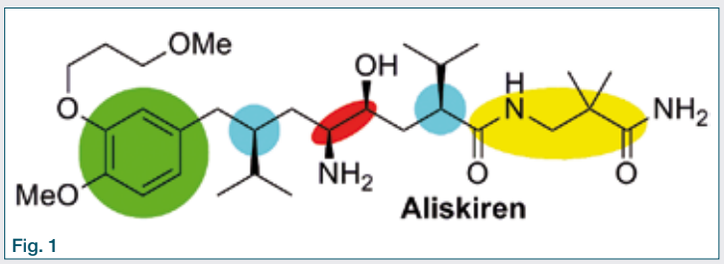


Fig. 1

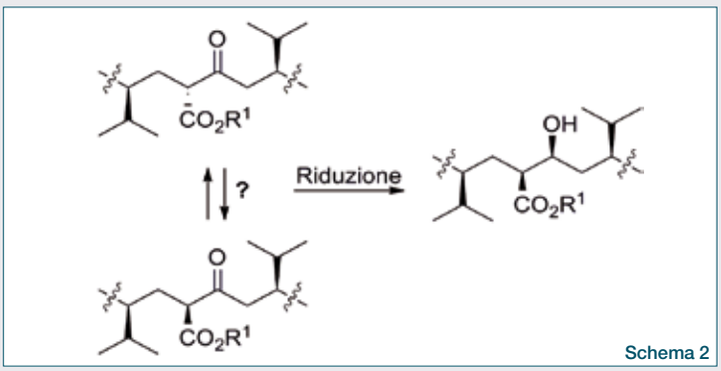
Da un punto di vista strutturale, Aliskiren è caratterizzato da una catena lineare recante 4 stereocentri, tutti di configurazione assoluta (*S*); i due "interni" appartengono ad un *sin*-1,2-amminoalcool (in rosso, Fig. 1) e i due esterni risiedono sui due gruppi isopropilici (azzurro). Un altro raggruppamento funzionale caratteristico è la catena ammino-ammidica terminale (giallo) oltre all'anello aromatico della porzione sinistra della molecola (verde) con due sostituenti di tipo alcossi (Fig. 1).

La strategia sintetica che si è dimostrata praticabile riconduce il gruppo amminico centrale ad un gruppo carbossilico attraverso un riarrangiamento di Curtius ed il gruppo ossidrilico ad un chetone attraverso una reazione di riduzione.

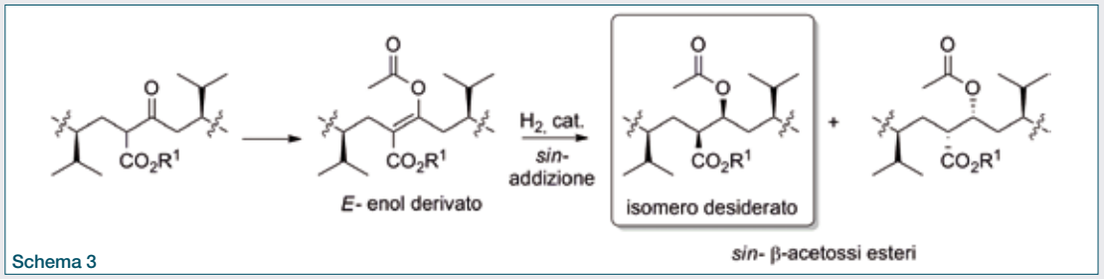
Il posizionamento di un gruppo carbossilico al centro della molecola permette infatti di disconnetterla (attraverso una reazione di alchilazione) in due frammenti "A" e "B" (Schema 1), entrambi recanti lo stereocentro con la configurazione assoluta richiesta.

Pur avendo ricondotto Aliskiren a due frammenti chirali accessibili usando metodologie note [5, 6], restava il problema del controllo della stereochimica dei due centri "interni" che si devono generare per riduzione del gruppo chetonico del β-chetoestere.

Questa problematica è stata centrale a tutto il lavoro di ricerca. Esistono infatti moltissime possibilità per realizzare la trasformazione desiderata: riduzioni con idruri di varia natura, borani, riduzioni microbiologiche, idrogenazioni cataliche ecc. È però difficile prevedere a priori quale possa essere la strategia migliore visto che il substrato possiede già due stereocentri definiti. L'agente riducente, anche se dotato di caratteristiche atte a controllare il decorso stereochimico della riduzione (come ad esempio leganti



Schema 2



Schema 3

chirali), sarà influenzato dall'intorno sterico del substrato. Anche la definizione della stereochimica in α- al gruppo carbossilico (Schema 2) è di difficile previsione dato che la riduzione di substrati di questo genere spesso procede attraverso una risoluzione cinetica dinamica [7].

Si è pensato quindi di ricorrere ad una metodologia di riduzione che permettesse il controllo contemporaneo dei due stereocentri. Le idrogenazioni dei doppi legami carbonio-carbonio, sia in fase eterogenea che in fase omogenea procedono quasi sempre come addizioni *sin*-, che è proprio la stereochimica relativa desiderata dei due stereocentri interni. Per ottenere un substrato adatto a questo tipo di approccio è necessario tuttavia trasformare il β-chetoestere nel corrispondente enol derivato con geometria *E*- sul doppio legame. Naturalmente, dall'idrogenazione del derivato enolico *E*- possono aver luogo due stereoisomeri, entrambi con stereochimica relativa "interna" di tipo *sin*- (Schema 3). Il controllo sul rapporto dei due isomeri è dato, in generale, dagli elementi stereochimici presenti (i gruppi isopropilici) dalla conformazione reattiva della molecola e dal catalizzatore con i suoi eventuali leganti.

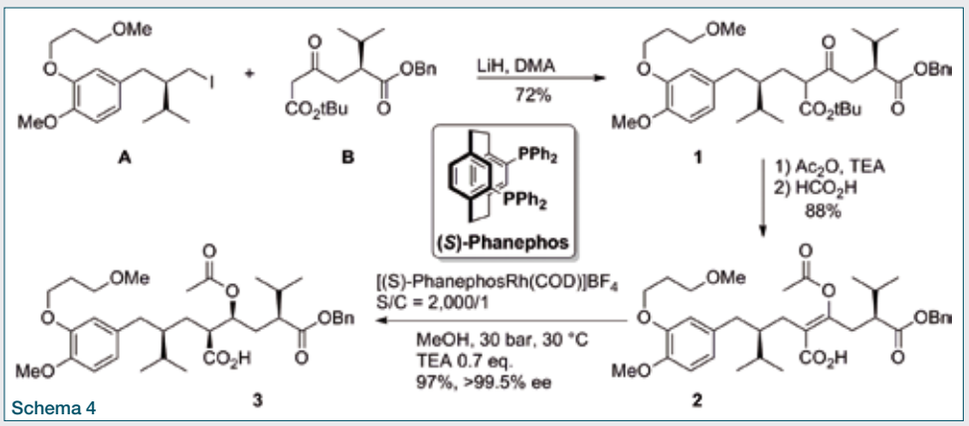
Sintesi dell'intermedio chiave della sintesi di Aliskiren

I frammenti A e B sono uniti in una reazione di alchilazione dopo formazione dell'enolato di litio del frammento B. La successiva enol acetilazione del β-chetoestere **1** così ottenuto avviene in anidride acetica e trietilammina ed è seguita dalla deprotezione del *terz*-butil estere per trattamento con acido formico che fornisce l'enol acetato acido **2** (Schema 4).

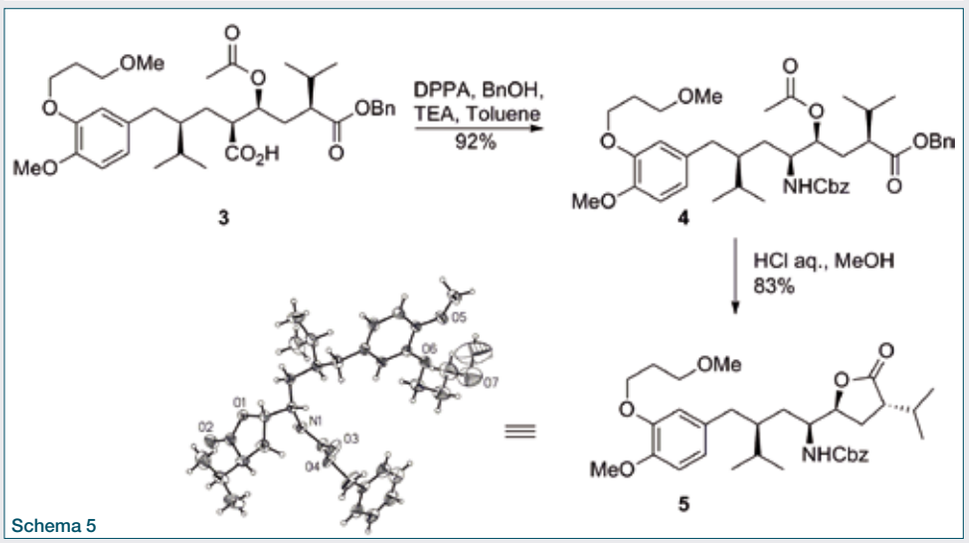
La funzione carbossilica di **2** ha una doppia utilità: permette la purificazione del prodotto (un olio) per semplice estrazione acido/base da tutti i sottoprodotti delle reazioni precedenti. Inoltre, la presenza del gruppo acido permette di ottenere una migliore selettività nell'idrogenazione catalitica enantioselettiva di **2** rispetto ai suoi esteri alchilici, come dimostrato dallo studio svolto in collaborazione con Jonhson Mattey Catalysts and Chiral Technologies (Cambridge, UK). In seguito ad uno screening molto ampio di catalizzatori eterogenei ed omogenei, di leganti e di additivi, è stato individuato il catalizzatore a base di rodio riportato in Schema 4, dove il legante chirale è una fosfina bidentata a scheletro paraciclofanico. Anche se risultati comparabili in termini di resa chimica e stereoselettività erano stati osservati anche con leganti diversi, il catalizzatore [(S)-PhanephosRh(COD)]BF_4 [8] è stato selezionato in quanto permetteva di lavorare con rapporto molare substrato/catalizzatore molto elevato. Dopo un'approfondita ottimizzazione del processo di riduzione su una scala di 100 g di acido **2**, il prodotto **3** è stato ottenuto con una stereoselettività praticamente perfetta ed una resa quantitativa con un valore di TON=2000.

Passaggi finali della sintesi

Il gruppo carbossilico di **3** è stato poi convertito in ottima resa nell'ammina protetta come benzilossicarbonile (Cbz) **4** per trattamento con difenil fosforil azide (DPPA) e alcol benzilico. La reazione è condotta a caldo in condizioni tali da impedire l'accumulo dell'intermedio energetico acil azide, che riarrangia rapidamente ad isocianato, il quale a sua volta è consumato immediatamente dall'addizione di alcool benzilico. Questo consente di operare in condizioni di massima sicurezza sull'impianto. L'intermedio **4**,



Schema 4



Schema 5

un olio, non viene isolato ma è subito idrolizzato in ambiente acido per dare l'ammino-lattone **5**, un solido cristallino e facilmente purificabile di cui è stata risolta la struttura ai raggi X [9], che ha confermato la stereochimica desiderata (Schema 5).

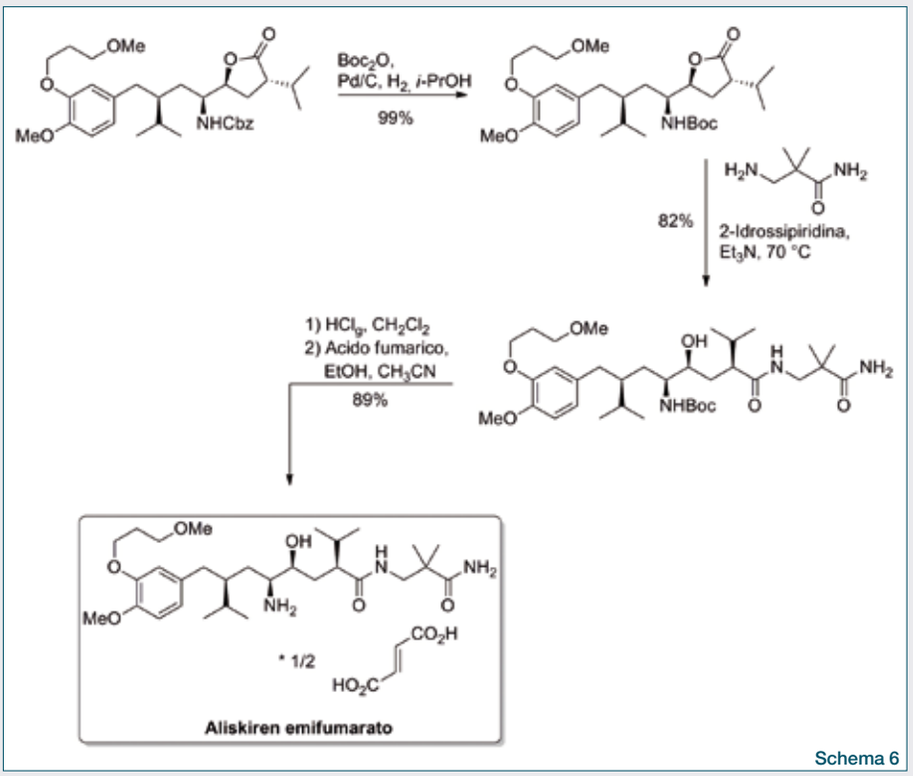
Il gruppo lattonico di **5** protegge la funzione alcolica e attiva quella carbossilica: dopo scambio del gruppo protettore sull'azoto (idogenolisi del benzil carbammato in presenza di Boc anidride) per dare il lattone **6**, questo viene aperto usando come nucleofilo l'amminoammide terminale **7** con blanda catalisi acida. La deprotezione dell'azoto e la successiva salificazione con acido fumarico forniscono infine Aliskiren emifumarato in resa eccellente (Schema 6).

I passaggi da **6** ad Aliskiren emifumarato ricalcano esattamente quelli del processo di Novartis [10], con una conseguente semplificazione delle attività regolatorie necessarie alla registrazione del generico presso FDA, EMEA o altri enti di controllo.

Conclusioni

Aliskiren è una molecola complessa, con funzionalità diverse e quattro stereocentri installati su una struttura aciclica che differisce abbastanza da molte delle classiche molecole API, oggetto di interesse per le aziende che si occupano di sviluppo sintetico di "generici". Con il lavoro svolto in stretta collaborazione tra Chemessentia, l'Università di Siena e, per la sua parte, Jonhson Mattey Catalysts and Chiral Technologies, è stato possibile realizzare una sintesi che riunisce un approccio originale caratterizzato da un completo controllo della sterochimica su strutture acicliche e da processi basati esclusivamente su catalizzatori chirali con una sintesi efficiente, industrializzabile e scalabile, attraverso la quale sono stati prodotti centinaia di grammi di principio attivo. L'immaginazione e l'esplorazione stanno in università, ma il lavoro sistematico di ottimizzazione e la capacità di produrre ed analizzare approfonditamente intermedi e prodotti stanno in azienda. Nella nostra esperienza, se i ruoli sono ben definiti ed ognuno svolge bene la sua parte, il risultato arriva e, con un pizzico di fortuna, anche qualche soddisfazione.

Ringraziamenti: Si ringraziano Antonio Zanotti-Gerosa e Stephen Roseblade (Johnson Mattey, UK) per le attività di screening sull'idrogenazione enantioselettiva; Alessandra Amorosi, Roberto Rossi e Micaela Graglia (Chemessentia) per il supporto analitico.



Schema 6

Bibliografia

[1] Lavoro presentato al XXXIV Convegno della Divisione di Chimica Organica della Società Chimica Italiana, Pavia, 10-14 settembre 2012.
[2] *Adv. Synth. Catal.*, articolo accettato per la pubblicazione.
[3] C. Jensen, P. Herold, H.R. Brunner, *Nature Rev. Drug. Disc.*, 2008, **7**, 399.
[4] P. Herold, S. Stutz, *EP* 1303478 B1.
[5] M. Taddei et al., *WO* 2011/151442.
[6] a) J.A.F. Boogers *et al., Org. Proc. Res. Dev*., 2007, **11**, 585; b) T. Sturm, W. Weissensteiner, F. Spindler, *Adv. Synth. Catal.*, 2003, **345**, 160; c) S. Li *et al., J. Am. Chem. Soc.*, 2008, **130**, 8584; d) F. Hettche, M. Völkert, C. Jäkel, *WO* 2006/097314.
[7] J.-P. Genet, *Acc. Chem. Res*., 2003, **36**, 908.
[8] P.J. Pye *et al.*, *J. Am. Chem. Soc*., 1997, **119**, 6207.
[9] L. Malpezzi (Politecnico di Milano), comunicazione personale.
[10] M.A. Foley, T.F. Jamison, *Org. Process Res. Dev.*, 2010, **14**, 1177.

ABSTRACT

Process Development of Generic Aliskiren

A synthesis of the new-generation antihypertensive Aliskiren is described. This innovative process features an asymmetric hydrogenation to simultaneously control two of the four chiral centers and a strategic use of the Curtius rearrangement.