

DESARROLLO DE PROCESO SINTÉTICO DE TENOFOVIR ALAFENAMIDA FUMARATO (TAF)

M. Ferrer Casal⁽¹⁾, M.J. Comin^(2,3), L. Gandolfi^(1,3), E. Elhalem^(1,3)

eelhalem@inti.gob.ar

⁽¹⁾ Dto. Ingredientes Activos y Biorrefinería-SOlyS-GODTel-INTI,

⁽²⁾ Gerencia Operativa de Desarrollo Tecnológico e Innovación-INTI

⁽³⁾ Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET)

Palabras Clave: IFAs; Salud pública; TAF

INTRODUCCIÓN

Desde el inicio de la epidemia causada por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) hasta la actualidad, ha habido un progreso significativo en el desarrollo de medicamentos para el tratamiento de infecciones producidas por retrovirus.

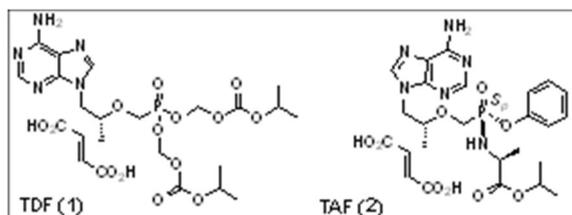


Figura 1: estructura de IFAs de interés.

Entre los medicamentos que se utilizan en el tratamiento del VIH se encuentra el Fumarato de Tenofovir Diisoproxilo (TDF, **1**), que en los últimos años se ha encontrado entre los de mayor facturación a nivel mundial. Asimismo, el Fumarato de Tenofovir Alafenamida (**2**), es un derivado de segunda generación que representa una mejora en efectividad respecto de **1** (actividad antiviral 500-1000 veces más potente y mejor distribución en tejidos linfáticos) [1]. Esto permite la administración de una dosis 10 veces inferior lo que implica una reducción del nivel de la droga en plasma y de efectos colaterales en riñón y hueso [2]. TAF, desarrollado por Gilead Sciences Inc. [3], está siendo estudiado en varios ensayos clínicos (fase III) [4], fue aprobado por la FDA en combinación con elvitegravir, cobicistat, emtricitabine con el nombre de Genvoya® para el tratamiento de VIH en pacientes adultos y pediátricos de más de 12 años [5] y está reemplazando a terapias de primera línea del VIH.

En Argentina más del 95% de los IFAs utilizados en formulaciones son de origen extranjero (China e India). En este sentido, para fortalecer toda la cadena de valor de la industria farmacéutica es necesario que se refuerce la industria farmoquímica a través del desarrollo local de IFAs, particularmente análogos de

nucleósidos, de alto costo e impacto en la salud pública.

OBJETIVOS

El proyecto que presentamos está orientado a generar capacidades para la producción en el país de análogos de nucleósidos para el tratamiento de VIH, de alto costo, con precios competitivos respaldando el acceso universal a medicamentos.

En el marco del PICT Start Up 2015-3855. otorgado con el fin de desarrollar este objetivo, se trabajó en un objetivo específico: el “Desarrollo de una ruta sintética eficiente, robusta, diastereoselectiva y escalable de fumarato de Tenofovir Alafenamida (TAF, **2**)”.

DESARROLLO

La síntesis para la obtención de TAF se desarrolló a partir de la patente WO2013052094 resumida en las Figuras 2 y 3.

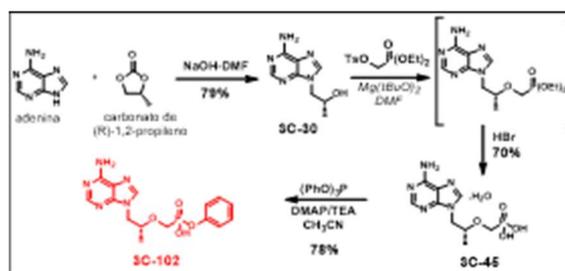


Figura 2: esquema de síntesis de 3C-102.

Desde el punto de vista sintético, el desafío más importante era obtener la diastereoselectividad deseada en el átomo de fósforo y conservarla en cada paso de la ruta sintética. El primer punto clave de la síntesis consistió entonces en la obtención de **3C-102** como un único diastereómero (*P*^{*}) (Figura 2).

En la segunda parte del desarrollo se presentó el desafío de obtener altos valores de diastereoselectividad en la formación del cloruro **3C-157** y evitar la erosión estereoquímica durante el acoplamiento con la amina quiral (**3C-60**), que introduce un nuevo centro asimétrico,

para dar lugar a la obtención de **3C-159** (tenofovir alafenamida) (Figura 3).

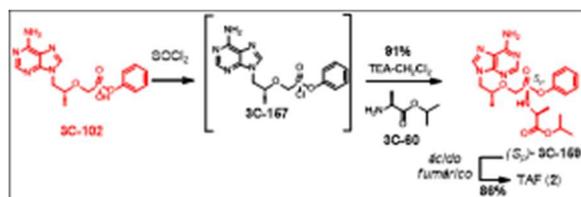


Figura 3: esquema de síntesis de TAF (2).

La secuencia de dos pasos para la obtención de **3C-159**, altamente sensible a las condiciones de reacción, fue estudiada en profundidad. Se realizaron aproximadamente 30 ensayos considerando variables como la relación de equivalentes y la concentración de precursores y reactivos, la naturaleza y relación de mezcla de solventes, el contenido de agua de los precursores (Karl-Fisher), el tiempo y temperatura de reacción, entre otros (Figura 3). Para analizar la composición diastereomérica de TAF fue necesario adquirir una columna de HPLC quiral (Chiralpak AD-3 (250mm x 4.6mm x 3µm) que permitió el desarrollo de un método para controlar este parámetro en cada lote. La relación diastereomérica (mayor a 98:2) es una especificación clave para la aprobación de los lotes de esta droga.

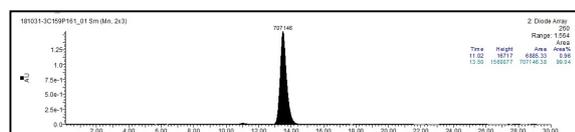


Figura 4: cromatograma HPLC-UV; fase móvil: hexano:isopropanol (60:40 v/v), 1ml/min, $\lambda = 260$ nm.

RESULTADOS

A partir de adenina y carbonato de (*R*)-1,2-propileno se ensayó la obtención de **3C-102** en escala de gramo y una vez optimizada se escaló a 100 g, con 100% de diastereoselectividad y altos rendimientos en los 3 pasos de reacción (Fig. 2 y 5).

La preparación de **3C-157** condujo al diastereómero deseado con relación diastereomérica 95:5, trabajando en escala de 5 g (90% de rdto). El acoplamiento con el amino éster **3C-60** condujo a **3C-159** con muy buen rendimiento (88-96%) y fue posible mantener la diastereoselectividad en todo el proceso.



Figura 5: escalado de 3C-102.

Como último paso, tratando **3C-159** con ácido fumárico se obtuvo TAF (**2**), con alto rendimiento (86%) y diastereoselectividad (99:1). Para llegar a este resultado se realizaron aproximadamente 20 ensayos donde se optimizó la purificación por cristalización tanto del producto final TAF (**2**) como de su precursor **3C-159**. Se desarrolló un proceso compatible con el escalado, obteniéndose un producto diastereoméricamente puro (dr 99:1) con rendimiento global del 14%.

Las muestras cristalizadas se sometieron a control de calidad mediante HPLC-UV, de acuerdo con los procedimientos actuales necesarios para el desarrollo galénico y cumplieron satisfactoriamente las principales especificaciones requeridas para el IFA comercial. Este proceso se desarrolló hasta escala de 5-10 g (prototipo).

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

En este proyecto se estudió la química involucrada para la producción de una droga compleja como TAF (**2**), con alta pureza diastereomérica. Se desarrolló un proceso robusto, escalable y con buen rendimiento que condujo al producto buscado con las especificaciones técnicas requeridas.

Cabe destacar que la experiencia ganada en este desarrollo permitió al grupo de trabajo llevar a cabo tres servicios de asesoramiento tecnológico para un Laboratorio farmacéutico Nacional, interesados en el producto.

Actualmente, terminamos la fase de prototipo a escala laboratorio, obteniendo lotes de 10 gramos de TAF que se analizaron por HPLC-UV y que cumplieron con las especificaciones.

Índice TRL: 5

AGRADECIMIENTOS

Agencia Nacional de Promoción de la Investigación, el Desarrollo Tecnológico y la Innovación, Ministerio de Ciencia, Tecnología e Innovación

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Lee, W. A.; He, G.; Eisenberg, E.; Cihlar, T.; Swaminathan, S.; Mulato, A.; Cundy, K. C. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2005, 49 (5), 1898–1906.
- [2] Darren, W.; Grossberg, R. *Future Virol.* 2015, 10 (9), 1068–1075.
- [3] MW, B.; HH, C.; T, C.; EJ, E.; G, H.; MR, K.; WA, L.; E, P.; JC, R.; ML, S. WO200208241A2, 2002.
- [4] <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT0226991>
- [5] <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm471300.htm>
- [6] Methods for preparing anti-viral nucleotide analogs WO2013052094A2.