



UNIVERSIDAD DE OVIEDO

FACULTAD DE QUÍMICA

**Obtención de un anillo heteroaromático clave
en la síntesis del Upadacitinib, inhibidor de
quinasas**

(Química Orgánica)

TRABAJO FIN DE GRADO EN QUÍMICA

Andrés Crespo Gil

Oviedo, Julio 2023

Índice

Abreviaturas	2
Resumen.....	3
1. Introducción.....	4
1.1. Upadacitinib. Estructura y quiralidad.....	4
1.2. Artritis reumatoide.....	5
1.3. Actividad biológica del Upadacitinib	6
1.4. Síntesis del Upadacitinib.....	6
2. Objetivo	10
3. Discusión de resultados	11
3.1. Estrategia sintética.....	11
3.2. Síntesis de 5-bromo-3-((trimetilsilil)etnil)pirazin-2-amina (13).....	12
3.3. Síntesis de 2-bromo-5-tosil-5 <i>H</i> -pirrolo[2,3- <i>b</i>]pirazina (14).....	15
3.4. Síntesis de (5-tosil-5 <i>H</i> -pirrolo[2,3- <i>b</i>]pirazin-2-il)-carbamato de etilo (2).....	18
4. Parte experimental	22
4.1. Generalidades	22
4.1.1. Condiciones de trabajo.....	22
4.1.2. Reactivos	22
4.1.3. Disolventes.....	22
4.1.4. Técnicas instrumentales.....	22
4.2. Procedimiento experimental.....	23
4.2.1. Síntesis de 5-bromo-3-((trimetilsilil)etnil)pirazin-2-amina (13)	23
4.2.2. Síntesis de 2-bromo-5-tosil-5 <i>H</i> -pirrolo[2,3- <i>b</i>]pirazina (14).....	24
4.2.3. Síntesis de (5-tosil-5 <i>H</i> -pirrolo[2,3- <i>b</i>]pirazin-2-il)-carbamato de etilo (2)	25
5. Conclusiones.....	26
6. Bibliografía	27
7. Anexos	28

Abreviaturas

acac	Acetilacetona
AcOEt	Acetato de etilo
AcOH	Ácido acético
Cbz	Carboxibencilo
<i>d</i>	Doblete
DCM	Diclorometano
DEPT	Distortionless Enhancement by Polarization Transfer
DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
DMSO-<i>d</i>₆	Dimetilsulfóxido deuterado
Hex	Hexano
IUPAC	International Union of Pure and Applied Chemistry
J	Constante de acoplamiento
JAK	Quinasa de Janus
<i>m</i>	Multiplete
<i>P</i>_{fus}	Punto de fusión
ppm	Partes por millón
<i>q</i>	Cuatriplete
<i>R</i>_f	Factor de retención
RMN	Resonancia Magnética Nuclear
<i>s</i>	Singulete
<i>t</i>	Triplete
THF	Tetrahidrofurano
TLC	Cromatografía en capa fina
TMS	Trimetilsilil
Ts	Tosilo
TYK	Tirosina quinasa
Xantphos	4,5-Bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno

Resumen

El (5-tosil-5*H*-pirrolo[2,3-*b*]pirazin-2-il)-carbamato de etilo es un compuesto heteroaromático clave en la síntesis del Upadacitinib, un fármaco inhibidor de las quinasas de Janus ampliamente utilizado para combatir la artritis reumatoide. Tras el estudio de las posibles metodologías que permiten llegar a este intermedio, se ha seleccionado un proceso de síntesis viable en el laboratorio, que permitió su obtención con buenos rendimientos y elevada pureza.

En este Trabajo Fin de Grado, se partió de una pirazina comercial convenientemente sustituida, que se sometió a una reacción de Sonogashira seguida de una ciclación y de una protección con TsCl para conseguir un anillo diheterocíclico de pirrolirazina. Este compuesto bicíclico se acopló a un carbamato de etilo por medio de un acoplamiento de Buchwald-Hartwig para obtener el (5-tosil-5*H*-pirrolo[2,3-*b*]pirazin-2-il)-carbamato de etilo con un elevado rendimiento.

El compuesto final se caracterizó debidamente por medio de espectroscopía RMN, así como los productos de todos los pasos de la síntesis.

1. Introducción

1.1. Upadacitinib. Estructura y quiralidad

El Upadacitinib es un compuesto de gran interés medicinal ya que es el principio activo del fármaco Rinvoq, aprobado recientemente para el tratamiento de la artritis reumatoide.¹ La estructura de este compuesto se muestra en la Figura 1.

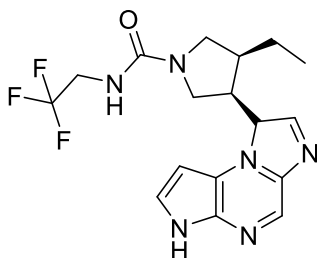


Figura 1: Estructura del Upadacitinib

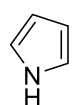
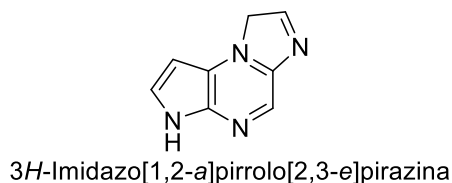
El nombre IUPAC del Upadacitinib es (3*S*,4*R*)-3-etil-4-(3*H*-imidazo[1,2-*a*]pirrolo[2,3-*e*]pirazin-8-il)-*N*-(2,2,2-trifluoroetil)pirrolidina-1-carboxamida. Su estructura es relativamente compleja ya que presenta diferentes grupos funcionales y 4 heterociclos nitrogenados (tres de ellos fusionados).

Su estructura también se puede entender como un anillo de pirrolidina que presenta 3 sustituyentes:

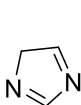
- En posición 1 se observa la (2,2,2-trifluoroetil)formamida, dando lugar a una funcionalidad de tipo urea.

- En posición 3 aparece un grupo etilo.

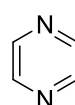
- En posición 4 se une un núcleo tricíclico de imidazopirrolopirazina. Este sustituyente es la 3*H*-imidazo[1,2-*a*]pirrolo[2,3-*e*]pirazina, que, como su propio nombre indica, se compone de un 4*H*-imidazol, un pirrol, y una pirazina fusionados. Su estructura aparece representada en la Figura 2.



Pirrol



4*H*-Imidazol



Pirazina

Figura 2: Estructura del sustituyente tricíclico de imidazopirrolopirazina

El Upadacitinib es un compuesto quiral que presenta dos estereocentros en los carbonos 3 y 4 de la pirrolidina; teniendo el carbono 3 configuración absoluta *S* y el carbono 4, configuración absoluta *R*.

La quiralidad es una propiedad especialmente importante en el contexto de los fármacos, ya que los diferentes estereoisómeros de un compuesto químico pueden presentar una actividad farmacológica diferente. Los fármacos obtenidos de fuentes naturales son en muchos casos quirales y se obtienen como enantiómeros puros. Sin embargo, los producidos por síntesis orgánica suelen generarse en forma de mezcla racémica. Se conocen varios casos en los que la presencia del enantiómero no eficaz en una mezcla racémica ha causado efectos contraproducentes o tóxicos, por lo que la obtención de compuestos enantioméricamente puros es de gran importancia en química medicinal.²

Una manera de obtener productos enantioméricamente puros es a través de la separación de enantiómeros de una mezcla racémica. Sin embargo, éste es un proceso realmente costoso, por lo que es de gran utilidad encontrar síntesis estereoselectivas que permitan obtener directamente la forma quiral de interés. Tal es la importancia del control de la estereoselectividad en síntesis orgánica que William Knowles, Barry Sharpless y Ryoji Noyori fueron galardonados con el premio Nobel en Química en el año 2001 por sus estudios acerca de la catálisis asimétrica.²

1.2. Artritis reumatoide

Como ya se ha comentado, el Upadacitinib se utiliza para el tratamiento de la artritis reumatoide. El término “artritis” significa inflamación de las articulaciones. La artritis reumatoide es una enfermedad autoinmune caracterizada por el dolor, hinchazón, y rigidez en las articulaciones, sobre todo después de periodos prolongados de reposo. Además de afectar a las articulaciones y los tejidos de sus alrededores, lo que genera deterioro de la función articular y disminución de la movilidad, la inflamación crónica puede dañar otros órganos vitales como el corazón, el pulmón o el riñón; lo que hace que sea considerada una enfermedad sistémica, es decir, que afecta a todo el organismo.³

El dolor e hinchazón en las articulaciones característico de la artritis se debe a la inflamación de la membrana sinovial, una capa de tejido conjuntivo que forma el límite entre las articulaciones y los tejidos adyacentes.

1.3. Actividad biológica del Upadacitinib

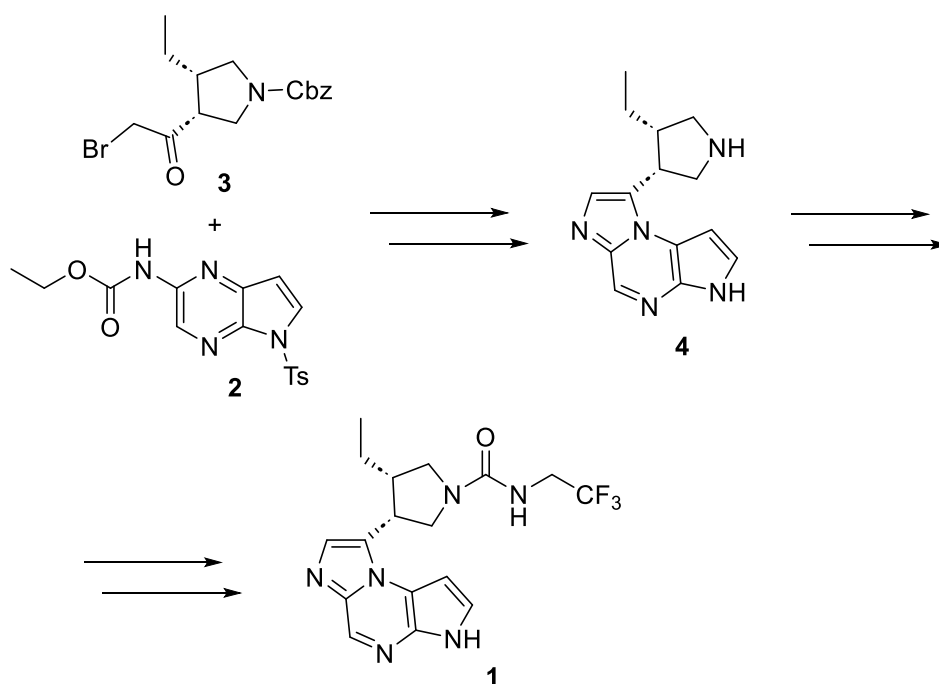
El Upadacitinib es el principio activo del Rinvoq, un fármaco que se presenta en forma de comprimidos. Ya que la artritis reumatoide es una enfermedad autoinmune, este compuesto actúa como inmunosupresor, reduciendo la actividad del sistema inmunitario. Se trata de un inhibidor enzimático que actúa bloqueando la acción de unas enzimas denominadas quinasas Janus. Estas enzimas intervienen en la señalización de citocinas; proteínas indispensables para regular la actividad de las células del sistema inmunitario en enfermedades inflamatorias autoinmunes como la artritis reumatoide. La familia de quinasas de Janus (JAK) está constituida por 4 enzimas (JAK1, JAK2, JAK3 y TYK2) y se ha comprobado que la inhibición selectiva de JAK1 provocada por el Upadacitinib tiene un impacto positivo en el tratamiento de la artritis reumatoide.

En agosto de 2019, en base a los resultados positivos de los ensayos multinacionales dirigidos por Sean Dugan y Susan Keam en pacientes con artritis reumatoide, el Upadacitinib recibió la aprobación para su comercialización como medicamento para el tratamiento de esta enfermedad en casos entre moderados y graves en los que los tratamientos convencionales no consiguen los resultados deseados.¹

A día de hoy, para pacientes con artritis reumatoide activa en los que el tratamiento con antirreumáticos ha fracasado, se está recomendando cada vez más el uso de inhibidores de quinasas de Janus. Algunos estudios han demostrado que el tratamiento utilizando Baricitinib (4 mg una vez al día) combinado con Upadacitinib (15 mg una vez al día) se asocia a una mejoría clínica significativa.⁴

1.4. Síntesis del Upadacitinib⁵

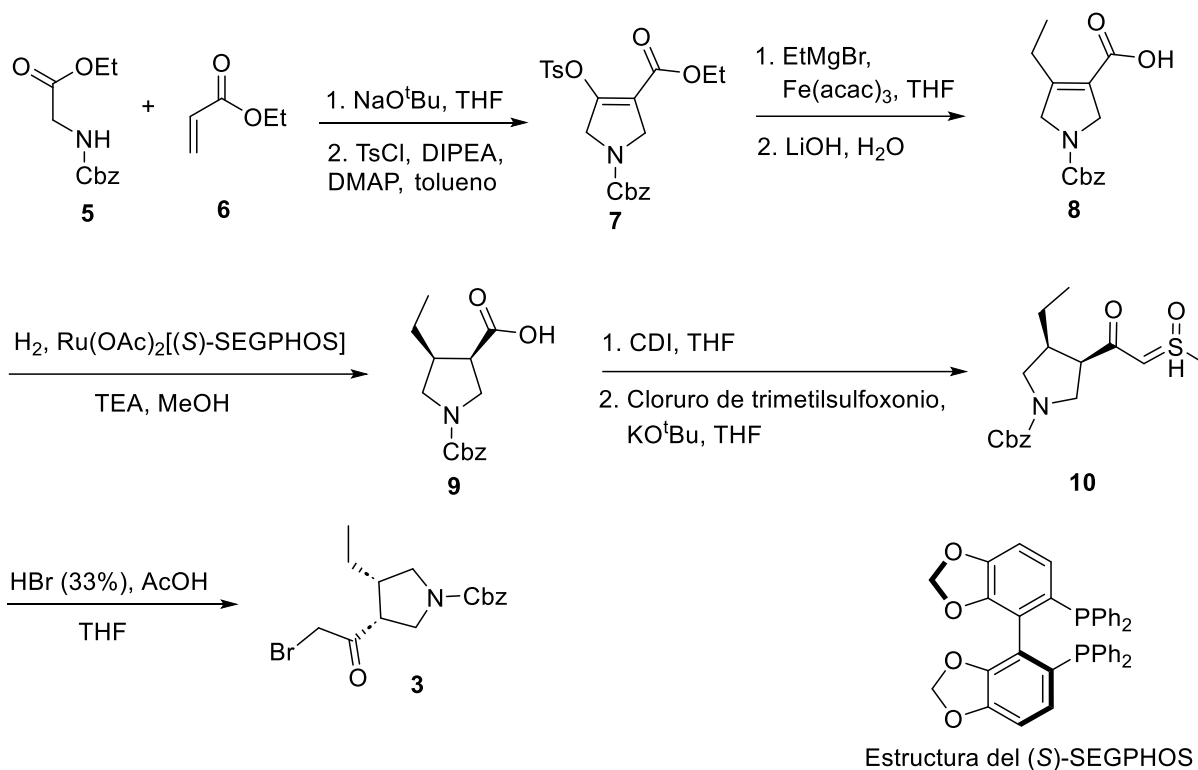
La estrategia sintética que permite obtener este compuesto consiste en preparar una pirrolidina quiral **3** sustituida en posición 3 con una bromometilcetona, que permite el acoplamiento con la pirrolopirazina **2** para formar un anillo de imidazol (Esquema 1). La formación de la urea en la última etapa permite obtener el Upadacitinib como se indica en el Esquema 1.



Esquema 1: Ruta sintética para obtener el Upadacitinib

La síntesis enantioselectiva de la pirrolidina **3** se basa en la obtención de un dihidropirrol sustituido convenientemente y su posterior reducción asimétrica a través de una hidrogenación (Esquema 2). Este dihidropirrol se consigue en un proceso de varios pasos que se inicia con la condensación del éster etílico de la glicina **5** convenientemente protegido por un grupo Cbz con acrilato de etilo (**6**). La conversión del producto de esta reacción en el correspondiente tosilato de alqueno **7**, seguido de un acoplamiento cruzado catalizado por $\text{Fe}(\text{acac})_3$ con bromuro de etilmagnesio y de la hidrólisis final del éster genera el dihidropirrol **8**.

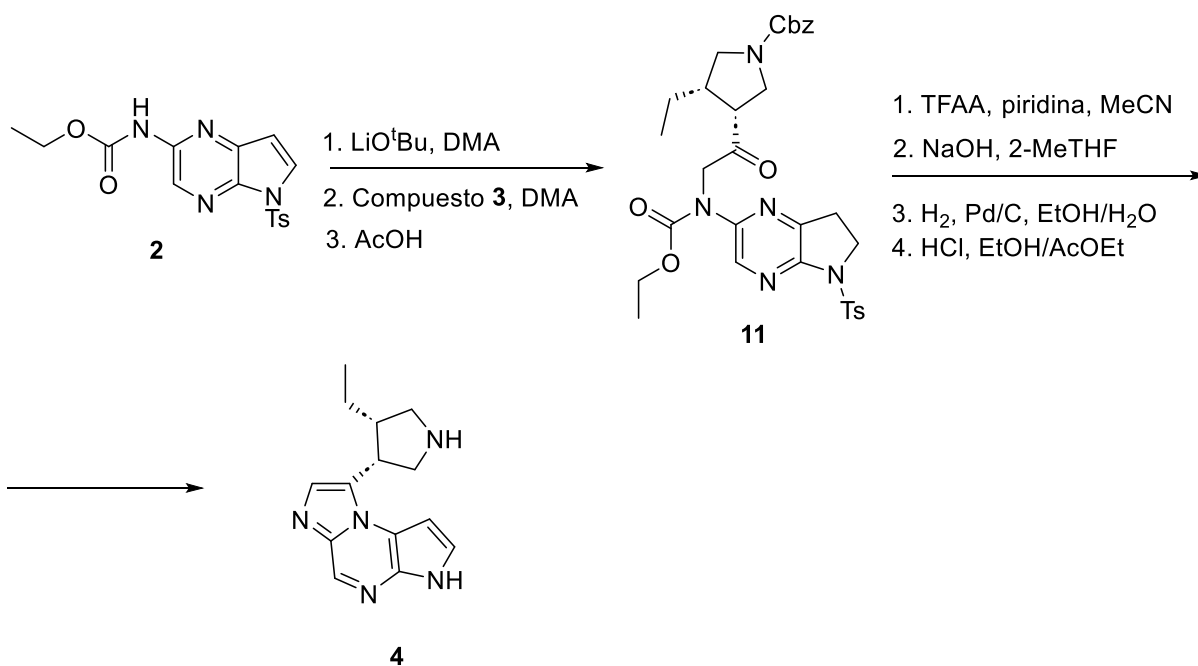
Para la reducción asimétrica del dihidropirrol **8** se emplea como catalizador el complejo $\text{Ru}(\text{OAc})_2[(S)\text{-SEGPHOS}]$. De esta manera se obtiene el producto hidrogenado **9** con un exceso enantiomérico superior al 99%. El ácido carboxílico obtenido puede convertirse en el iluro de β -cetodimetilsulfoxonio **10**, que da lugar a la pirrolidina **3** por tratamiento con HBr en AcOH.



Esquema 2: Síntesis de la pirrolidina 3

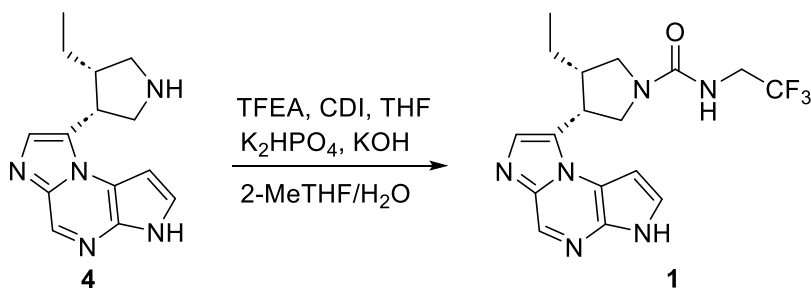
El compuesto de interés para este trabajo es realmente la pirrolopirazina **2** que como ya se ha comentado, se hace reaccionar con la bromocetona **3** en el proceso de síntesis de Upadacitinib (ver Esquema 1). Por ello, la síntesis de este compuesto se detallará en mayor profundidad en apartados posteriores.

Cabe destacar que el proceso de acoplamiento entre **2** y **3** se hace en presencia de una base como LiO^tBu (Esquema 3). La ciclación del producto de acoplamiento obtenido se puede lograr sin problemas utilizando anhídrido trifluoroacético (TFAA) en presencia de piridina; y tras eliminar los grupos protectores, se consigue aislar el compuesto **4** con rendimientos superiores al 75%.



Esquema 3: Formación del anillo de imidazol

Por último, la formación de la urea sobre el anillo de pirrolidina se consigue utilizando condiciones de Schotten Bauman. La 2,2,2-trifluoroetilamina (TFEA) debe ser activada con 1,1'-carbonildiimidazol (CDI) y adicionarse al compuesto **4** en una mezcla bifásica de 2-MeTHF/ H_2O ; obteniéndose de esta manera el Upadacitinib **1** (Esquema 4).



Esquema 4: Formación del grupo urea

2. Objetivo

El objetivo de este trabajo es la síntesis del anillo heteroaromático (5-tosil-5H-pirrolo[2,3-b]pirazin-2-il)-carbamato de etilo, un intermedio clave en la obtención del Upadacitinib, fármaco contra la artritis reumatoide. La estructura del compuesto de interés aparece en la Figura 3.

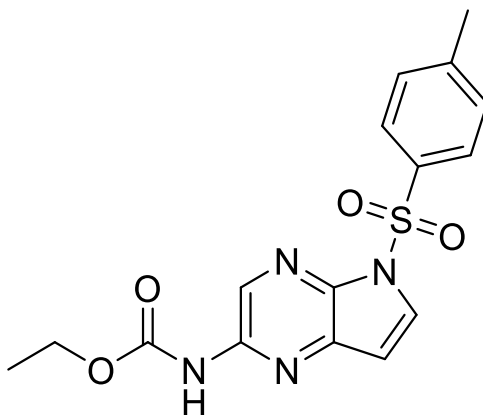


Figura 3: Estructura del (5-tosil-5H-pirrolo[2,3-b]pirazin-2-il)-carbamato de etilo

Se busca sintetizar este compuesto utilizando un procedimiento económico y sostenible, acorde con el enfoque de la química verde. De la misma manera, se deben caracterizar todos los intermedios obtenidos a lo largo de esta síntesis.

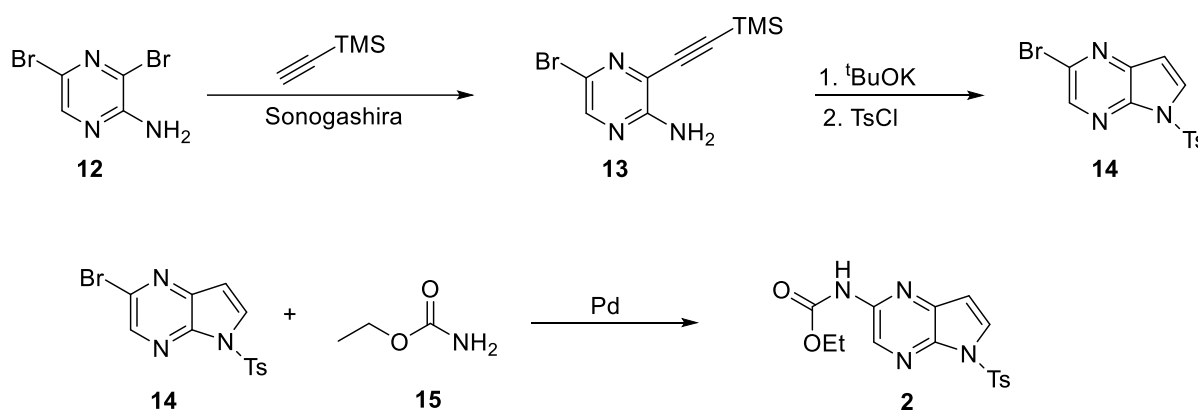
3. Discusión de resultados

3.1. Estrategia sintética

Como se ha señalado, el objetivo de este trabajo es la síntesis del (5-tosil-5*H*-pirrolo[2,3-*b*]pirazin-2-il)-carbamato de etilo **2**, un intermedio clave en la obtención del Upadacitinib.

Este compuesto pertenece a la familia de los carbamatos, derivados del ácido carbámico. Presenta en su estructura un grupo tosilo que servirá como grupo protector, además de un núcleo diheterocíclico de pirrolopirazina.

La estrategia sintética que aparece en la bibliografía para obtener este compuesto consta de 3 pasos, que se explicarán en profundidad en apartados posteriores (Esquema 5).⁵



*Esquema 5: Síntesis del (5-tosil-5*H*-pirrolo[2,3-*b*]pirazin-2-il)-carbamato de etilo*

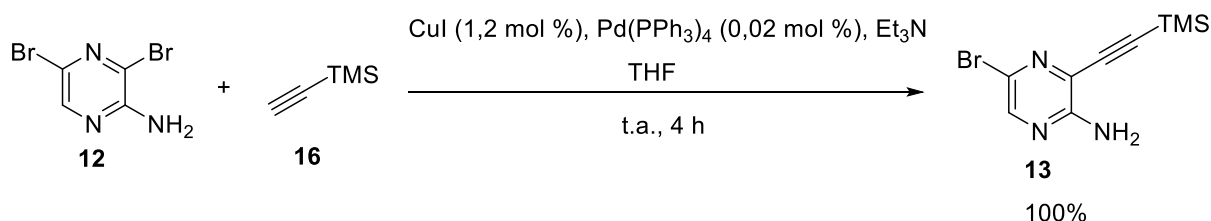
El procedimiento seleccionado llevó a la obtención del compuesto de interés **2** con un rendimiento global aceptable; permitiendo el uso de reactivos de bajo coste, y el aislamiento y tratamiento adecuado de los subproductos generados.

El reactivo de partida es la 2-amino-3,5-dibromopirazina, una pirazina comercial convenientemente sustituida que puede funcionalizarse para dar lugar al anillo de pirrolopirazina presente en el compuesto de interés.

El primer paso de la síntesis consistió en un acoplamiento de Sonogashira entre el compuesto **12** y trimetilsililacetileno, empleando un catalizador de Paladio. Posteriormente, se obtuvo el núcleo de pirrol mediante una ciclación desarrollada por Knochel,^{6,7} y se protegió el grupo amino en el mismo paso de reacción. Finalmente, la instalación del carbamato de etilo siguiendo un acoplamiento de Buchwald-Hartwig (también catalizado por Paladio) permitió la obtención del (5-tosil-5*H*-pirrolo[2,3-*b*]pirazin-2-il)-carbamato de etilo, el intermedio clave en la síntesis del Upadacitinib cuya síntesis es el principal objetivo del presente Trabajo de Fin de Grado.

A continuación, se comentan con mayor detalle los resultados obtenidos en el laboratorio para cada uno de los pasos de la síntesis.

3.2. Síntesis de 5-bromo-3-((trimetilsilil)etininil)pirazin-2-amina (**13**)



*Esquema 6: Síntesis de 5-bromo-3-((trimetilsilil)etininil)pirazin-2-amina (**13**)*

La síntesis de la 5-bromo-3-((trimetilsilil)etininil)pirazin-2-amina (**13**) se llevó a cabo por medio de una reacción de Sonogashira, tal y como se muestra en el Esquema 6.

Se mezcló a temperatura ambiente la pirazina **12** con el trimetilsililacetileno (**16**) en THF, y se añadió un 0,02 mol % de Pd(PPh₃) y un 1,2 mol % de CuI. La reacción se llevó a cabo en presencia de Et₃N y bajo atmósfera de nitrógeno y se siguió su avance por TLC. Tras agitar la mezcla durante 4 horas a temperatura ambiente, la TLC mostró la desaparición de la pirazina inicial del medio de reacción y la aparición de un nuevo compuesto. En ese momento, habían aparecido en el matraz algunas sales insolubles, por lo que se llevó a cabo una filtración con celita. Tras eliminar los disolventes en el rotavapor se realizó un análisis por espectroscopía RMN del crudo, observándose únicamente el producto de acoplamiento **13**, por lo que la purificación no fue necesaria. La 5-bromo-3-((trimetilsilil)etininil)pirazin-2-amina (**13**) se obtuvo de manera cuantitativa como un sólido marrón.

El espectro de ¹H-RMN del compuesto **13** (Anexo 1) es muy sencillo de interpretar debido a la presencia de únicamente 3 tipos de H en esta molécula.

El espectro de ¹³C-RMN (Figura 4) es algo más complejo, sobre todo a la hora de diferenciar los 4 carbonos del núcleo de pirazina. En primer lugar, se observan 7 señales, lo que concuerda con los 7 tipos de C que se encuentran en el compuesto **13**. A los valores de desplazamiento químico de $\delta = 155,9$ ppm; $144,6$ ppm; $123,1$ ppm y $122,5$ ppm aparecen las señales correspondientes al anillo de pirazina; mientras que a $\delta = 103,1$ ppm y $\delta = 99,0$ ppm se encuentran las señales correspondientes a los carbonos acetilénicos. Por último, la señal a $\delta = -0,4$ ppm se corresponde con los 3 grupos -CH₃ del sustituyente trimetilsilil.

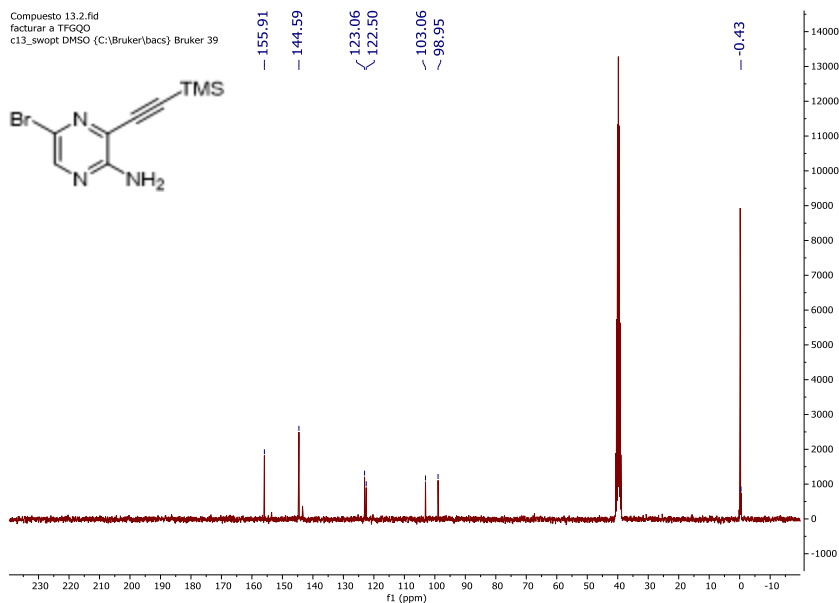
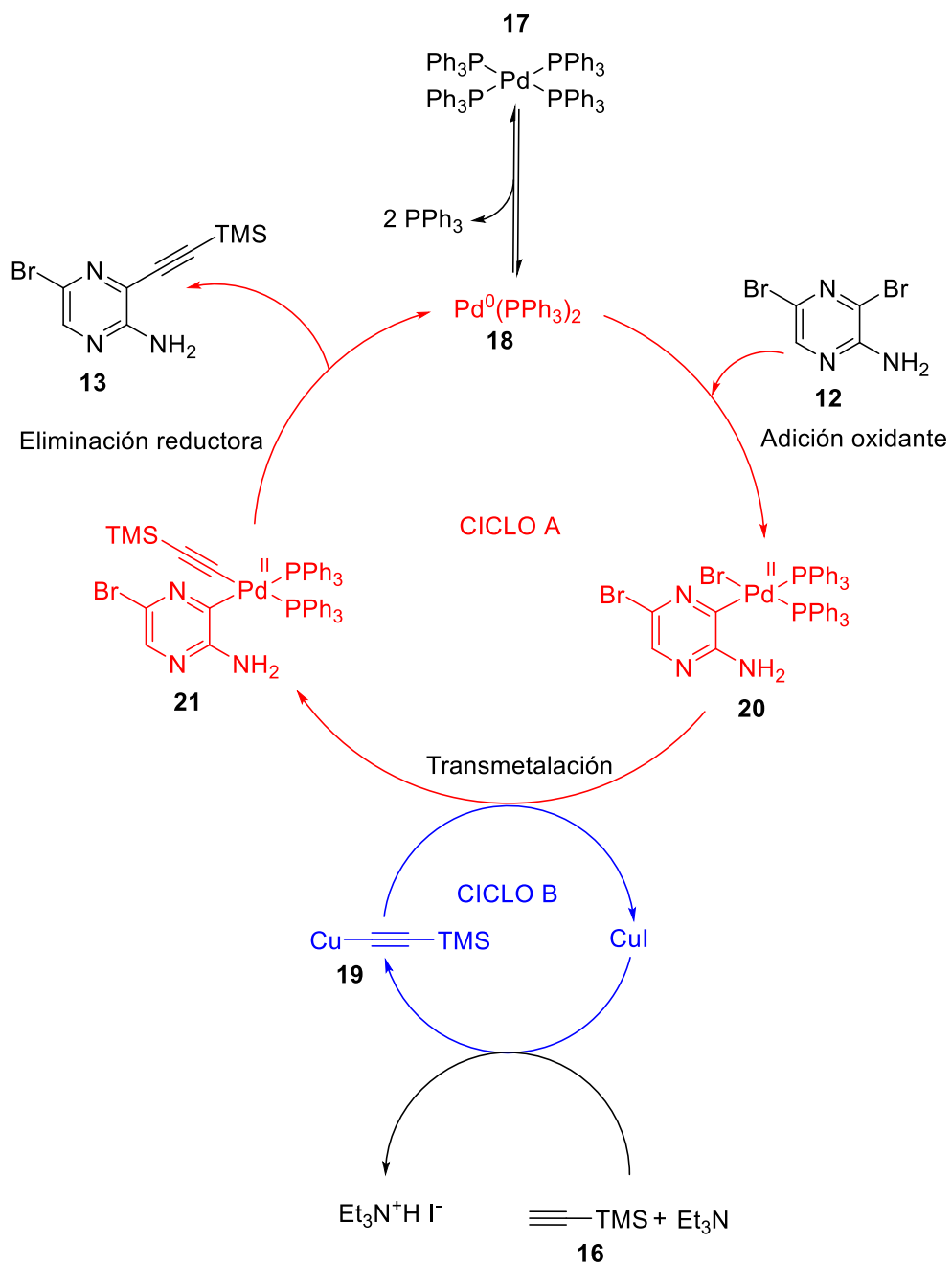


Figura 4: Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 13

El mecanismo de reacción se recoge en el Esquema 7, y consta de dos ciclos catalíticos. En este caso se utilizó como catalizador el $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ cuya forma activa para la reacción de interés es $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2$, que se genera en el medio de reacción gracias a un equilibrio de pérdida de ligandos.⁷

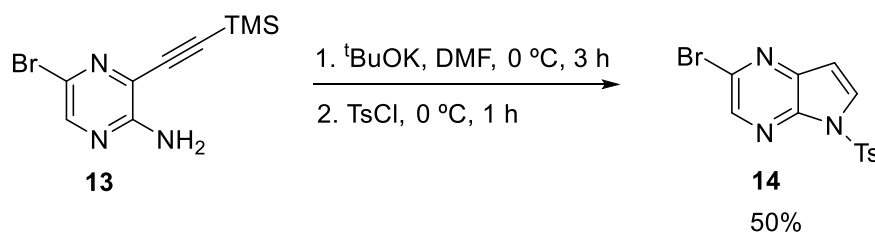
En el ciclo A tiene lugar la adición oxidante de un organohaluro, en nuestro caso la pirazina **12**, sobre la forma activa del catalizador (**18**) para generar el complejo de Pd(II) **20**. El carbono nucleofílico del acetiluro de cobre (**19**), formado en presencia de trietilamina y yoduro de cobre (I) (Ciclo B) reacciona ahora con este complejo por medio de una transmetalación, obteniéndose un nuevo complejo de Pd(II) (**21**) y regenerándose el CuI, de tal forma que se cierra el ciclo B.

Finalmente, este último complejo (**21**) evoluciona hacia el producto de acoplamiento deseado (**13**) mediante una eliminación reductora. Este paso permite a su vez la regeneración de la forma activa del catalizador (**18**), cerrándose el ciclo A.



Esquema 7: Mecanismo de la reacción de Sonogashira

3.3. Síntesis de 2-bromo-5-tosil-5H-pirrolo[2,3-b]pirazina (14)



Esquema 8: Síntesis de 2-bromo-5-tosil-5H-pirrolo[2,3-b]pirazina (14)

La síntesis de la 2-bromo-5-tosil-5H-pirrolo[2,3-b]pirazina (**14**) se llevó a cabo en dos etapas a partir de la amina **13**. En primer lugar se realizó la ciclación a través de un proceso formal de hidroaminación del alquino para obtener el correspondiente anillo de pirrolo[2,3-b]pirazina en un proceso en el que además se pierde el grupo trimetilsililo. En un segundo paso, se llevó a cabo la protección del nitrógeno de tipo pirrol con un grupo tosilo (Esquema 8).

Más concretamente, el alquino **13** se disolvió en DMF y se adicionó lentamente el $t\text{BuOK}$ a $0\text{ }^{\circ}\text{C}$. La mezcla se mantuvo bajo agitación sobre un baño de hielo, hasta que, tras 3 horas de reacción, el análisis por TLC mostró la conversión completa del material de partida. En ese momento se adicionó el TsCl y se mantuvo bajo agitación durante 1 hora más, apareciendo una suspensión de color marrón que se filtró sobre un lecho de celita. Tras la adición de una disolución acuosa saturada de NaCl sobre el filtrado, se llevó a cabo una extracción con dietil éter que permitió obtener el producto **14** con un alto grado de pureza sin necesidad de purificación tal y como mostraron los análisis de RMN realizados sobre el crudo de reacción. La 2-bromo-5-tosil-5H-pirrolo[2,3-b]pirazina (**14**) se obtuvo como un sólido anaranjado con un 50% de rendimiento.

En el espectro de ^1H -RMN del compuesto **14** (Figura 5) aparecen varias señales a valores altos de desplazamiento químico debido a la presencia de 3 anillos aromáticos en la molécula. A $\delta = 8,55\text{ ppm}$ aparece un singulete que integra para un hidrógeno, correspondiente al H del anillo de pirazina, que es el único protón aromático que no se acopla con ningún otro. A $\delta = 8,35\text{ ppm}$ y $6,99\text{ ppm}$ aparecen los hidrógenos del anillo de pirrol en forma de dobletes, con una constante de acoplamiento de $4,2\text{ Hz}$. A los valores de desplazamiento químico de $\delta = 7,95\text{ ppm}$ y $7,41\text{ ppm}$ aparecen dos dobletes que integran para dos hidrógenos, cada uno de ellos con una constante de acoplamiento de $8,5\text{ Hz}$, correspondientes a los 2 tipos de H del anillo aromático del grupo tosilo. La última señal presente en este espectro es un singulete que integra para tres hidrógenos, que se encuentra a $\delta = 2,31\text{ ppm}$; y se corresponde con los hidrógenos del $-\text{CH}_3$ del grupo tosilo.

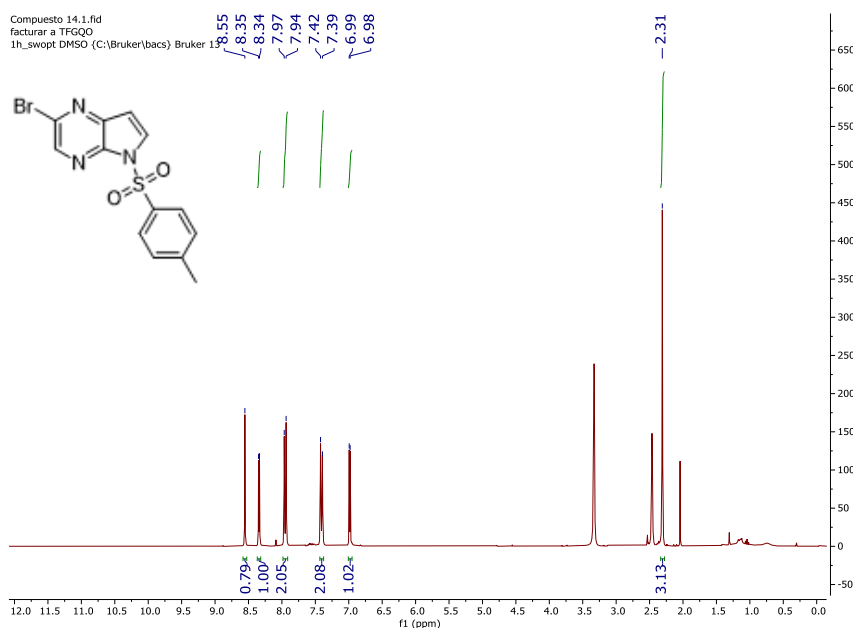


Figura 5: Espectro de ^1H -RMN del compuesto 14

El espectro de ^{13}C -RMN (Figura 6) presenta 11 señales, en concordancia con los 11 tipos de C presentes en la molécula. 9 señales se encuentran a desplazamientos químicos entre $\delta = 146,4$ ppm y $\delta = 127,6$ ppm; y una décima se encuentra a $\delta = 105,9$ ppm (característica del carbono en β respecto al N en el anillo de pirrol). Todas estas señales se corresponden con carbonos aromáticos. La última señal se encuentra a $\delta = 21,2$ ppm y se corresponde con el -CH₃ del grupo tosilo.

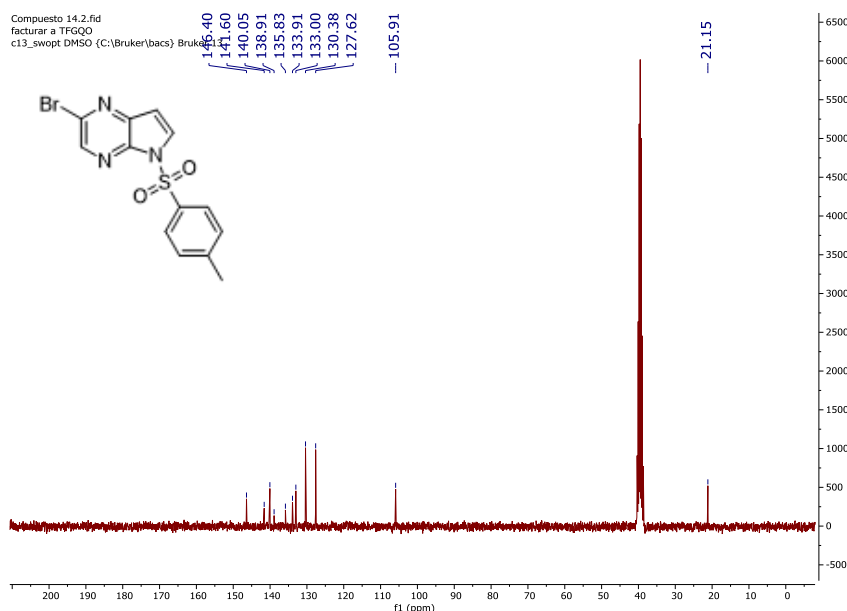
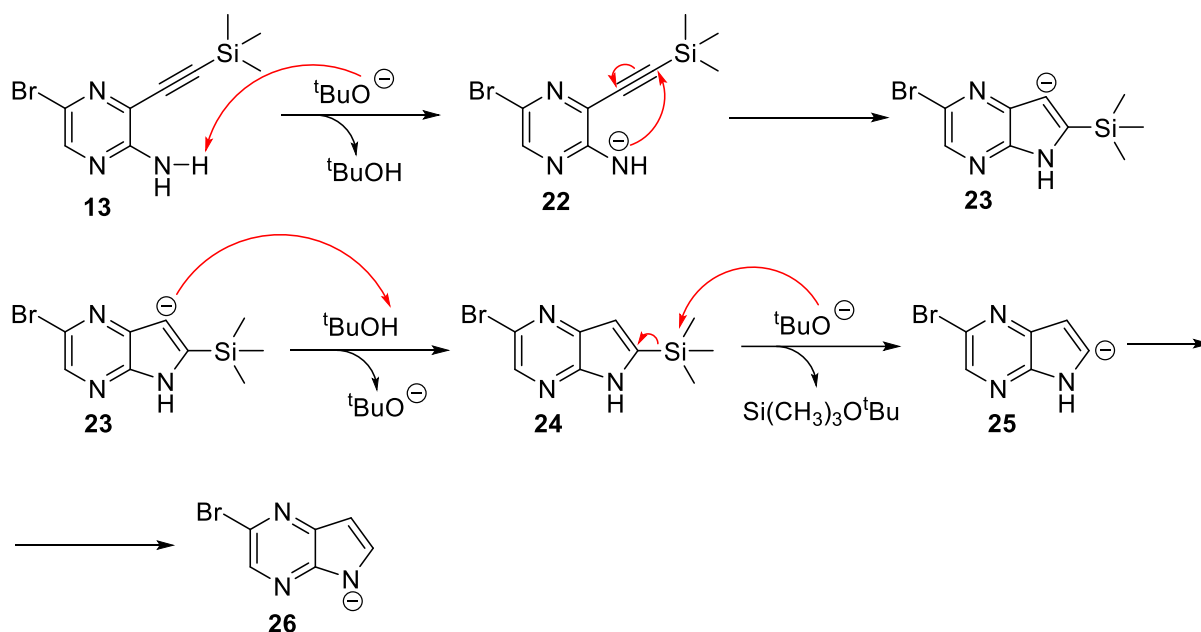


Figura 6: Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 14

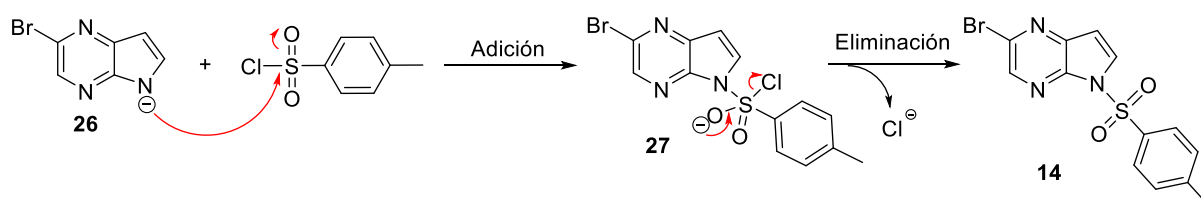
A continuación se muestran los mecanismos de las reacciones que conducen al producto **14** a partir de la amina **13**. La primera etapa permite la formación del anillo de pirrol, y el mecanismo de reacción⁸ se indica en el Esquema 9. El tert-butóxido de potasio actúa como

base fuerte y desprotona la amina primaria, de tal forma que el átomo de N queda cargado negativamente. Este átomo de N, muy nucleofílico, puede atacar al carbono acetílico por medio de una reacción intramolecular, dando lugar a un heterociclo de 5 miembros. El tertbutanol generado cede finalmente su protón para neutralizar la carga negativa presente en el anillo de pirrol, dando lugar al intermedio **24** como un compuesto diheterocíclico de pirrolopirazina. La eliminación del grupo trimetilsililo tiene lugar por adición del anión tertbutóxido sobre el silicio para generar una nueva especie carbaniónica **25** que evolucionará hacia el amiduro **26** dada la mayor acidez del NH respecto al CH.



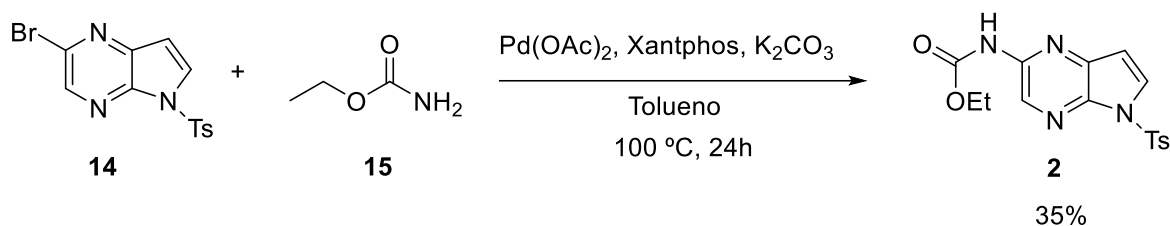
Esquema 9: Mecanismo de la reacción de ciclación, seguida de la eliminación del TMS

En la segunda etapa, la adición del cloruro de tosilo permite la protección del grupo amina. El mecanismo de esta transformación se refleja en el Esquema 10.² El par de electrones libre del átomo de N ataca al sulfonilo, dando lugar a la reacción de protección con el grupo tosilo por medio de un mecanismo adición-eliminación.



Esquema 10: Mecanismo de la reacción de protección con el grupo tosilo

3.4. Síntesis de (5-tosil-5H-pirrolo[2,3-b]pirazin-2-il)-carbamato de etilo (2)



Esquema 11: Síntesis de (5-tosil-5H-pirrolo[2,3-b]pirazin-2-il)-carbamato de etilo (2)

La síntesis del (5-tosil-5H-pirrolo[2,3-b]pirazin-2-il)-carbamato de etilo (**2**) se llevó a cabo por medio de un acoplamiento de Buchwald-Hartwig, tal y como se indica en el Esquema 11.

En un primer experimento se siguió el procedimiento encontrado en la bibliografía y así se mezclaron los reactivos en las proporciones adecuadas utilizando tolueno como disolvente, y se calentó la mezcla a 90°C durante 3 horas. Sin embargo, el análisis por RMN del crudo de la reacción no permitió identificar claramente las señales del producto deseado **2** y la purificación por cromatografía de columna únicamente permitió el aislamiento del material de partida **14**.

Entonces, se repitió la reacción variando ligeramente las condiciones. En este segundo intento se calentó la mezcla a una temperatura superior (en torno a 110°C, T^a de ebullición del tolueno), y se dejó reaccionando durante 24 horas, siguiendo el avance por TLC. Tras dejar enfriar la mezcla de reacción se añadieron éter y agua y se realizó una extracción líquido-líquido. El combinado de fases orgánicas se secó sobre Na₂SO₄ anhidro, se eliminó el disolvente, y el crudo de reacción se purificó mediante cromatografía de columna (Hex:AcOEt 5:1) para obtener el producto **2** como un aceite amarillento con un 35% de rendimiento.

En el espectro de ¹H-RMN (Figura 7), la primera señal que se aprecia a δ = 9,13 ppm es un singlete que integra para 1 H, correspondiente con el -NH. A δ = 8,04 – 8,00 ppm se encuentra la señal más compleja del espectro, un multiplete que integra para tres hidrógenos que se considera un solapamiento de las señales correspondientes al protón del anillo de pirazina y a dos de los protones del grupo tosilo. Las siguientes señales a δ = 7,92 ppm y 6,65 ppm son dobletes que integran para un hidrógeno cada uno de ellos, correspondientes a los dos protones del anillo de pirrol (presentan el mismo valor de la constante de acoplamiento, de 4,1 Hz); y la señal a 7,28 ppm que integra para dos hidrógenos es propia de los otros dos protones del grupo tosilo. A δ = 4,25 ppm aparece una señal en forma de un cuatriplete con una constante de acoplamiento de 7,1 Hz, que integra para dos hidrógenos y corresponde a los hidrógenos del -CH₂ del grupo etilo. Las dos señales restantes, a δ = 2,37 ppm y 1,30 ppm integran para tres hidrógenos, por lo que se corresponden con dos grupos metilo (del tosilo y del etilo). La señal a δ = 2,37 ppm es un singlete, por lo que pertenece al -CH₃ del grupo

tosilo, mientras que la señal a $\delta = 1,30$ ppm es un triplete con una constante de acoplamiento de 7,1 Hz característico del metilo del grupo etilo.

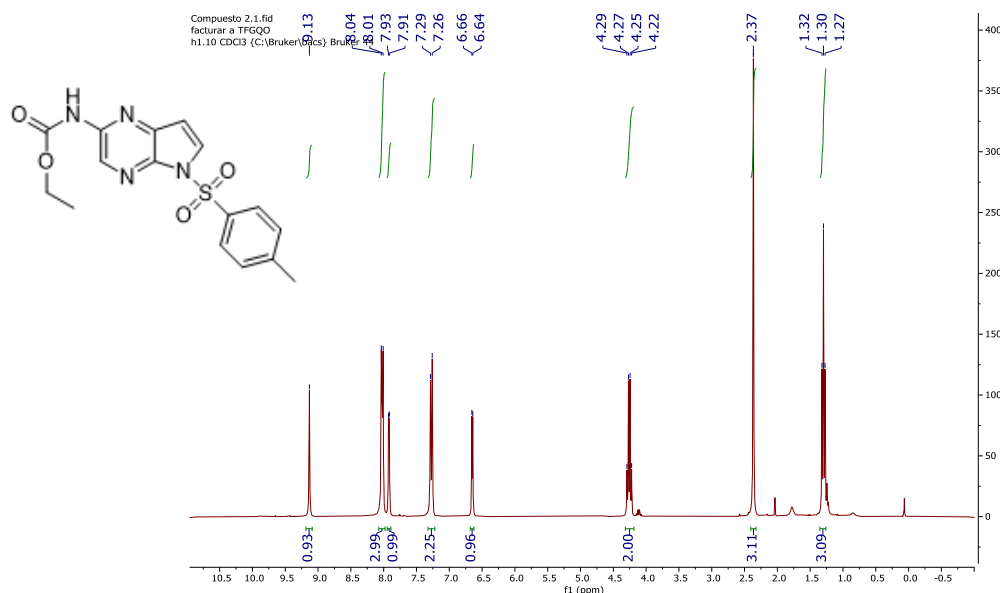


Figura 7: Espectro de ^1H -RMN del compuesto 20

La molécula presenta 14 tipos de C, en concordancia con las 14 señales presentes en el espectro de ^{13}C (Figura 8). La primera señal, a $\delta = 153,2$ ppm es una de las más características, ya que se corresponde con el C=O, que no estaba presente en el reactivo de partida. Hay 9 señales entre $\delta = 145,9$ ppm y 105,5 ppm, propias de los carbonos del núcleo diheterocíclico de pirrolopirazina y del anillo aromático del grupo tosilo (ver asignación en el apartado 4.2.3. de la parte experimental). A $\delta = 62,1$ ppm aparece una señal propia del $-\text{CH}_2$ del etilo. Por último, a $\delta = 21,8$ ppm se encuentra la señal correspondiente al $-\text{CH}_3$ del grupo tosilo, y a $\delta = 14,6$ ppm, la señal del $-\text{CH}_3$ del etilo.

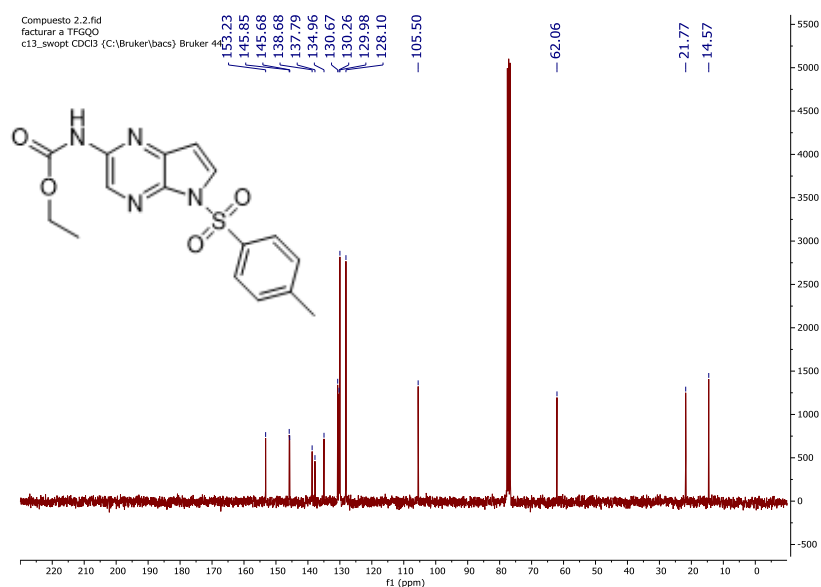


Figura 8: Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 20

En cuanto al mecanismo de reacción de formación del compuesto **2** a partir de **14**, se ha de comentar en primer lugar que se trata de una reacción de Buchwald-Hartwig. La reacción de Buchwald-Hartwig consiste en un acoplamiento entre un haluro de arilo y una amina primaria o secundaria. Requiere la presencia de un catalizador de Pd y una base, y tiene una gran importancia en síntesis orgánica al permitir la formación de enlaces C-N.⁹

El catalizador seleccionado es el Pd(OAc)₂, un catalizador de Pd(II) que en el medio de reacción se reduce a Pd(0) y se coordina con el ligando bidentado Xantphos. Esta transformación se muestra en el mecanismo de la reacción (Esquema 12).¹⁰ El Xantphos es un ligando bidentado muy voluminoso, por lo que se denotará como **L** en el mecanismo de la reacción para simplificar el esquema.

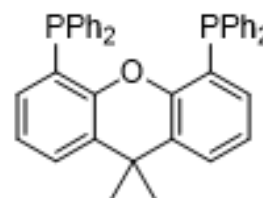
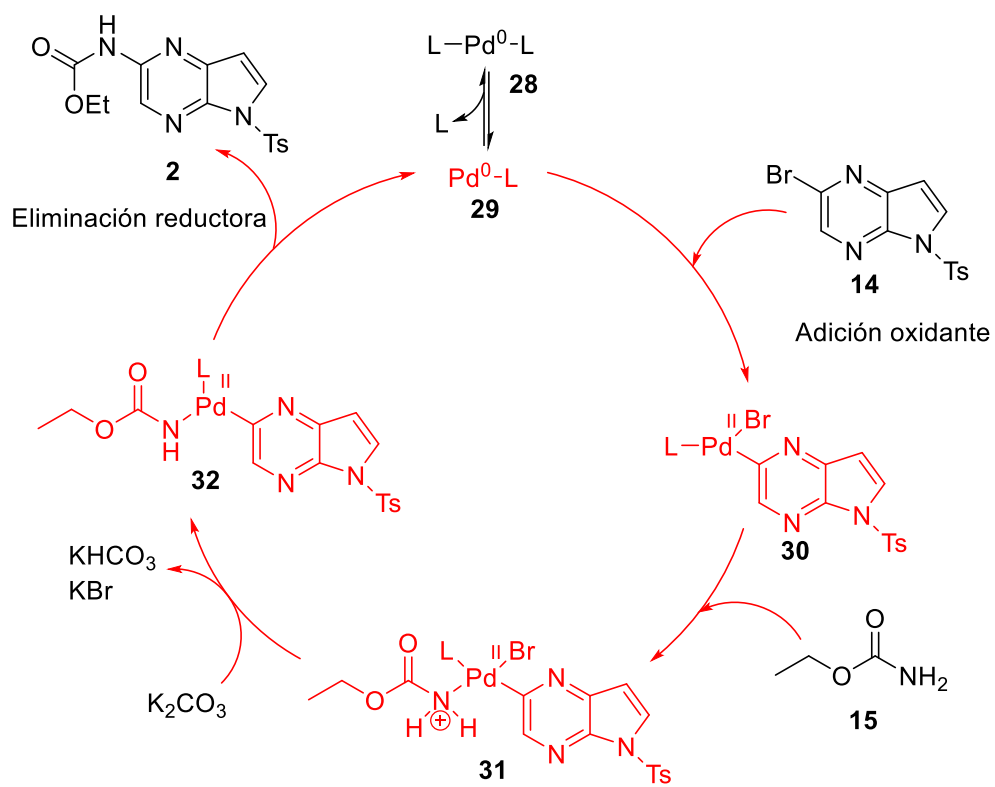


Figura 9: Estructura del Xantphos

Inicialmente el Pd(OAc)₂ se coordina con el Xantphos para dar lugar a un complejo plano cuadrado, que se convierte en un complejo de Pd(0) por reducción en el medio de reacción. Este compuesto (**28**) se encuentra en equilibrio con la forma Pd⁰-L (**29**), que entra en el ciclo catalítico.

La adición oxidante del haluro de arilo **14** tiene lugar sobre la forma activa del catalizador para generar el complejo intermedio **30**; al cual se une también el carbamato de etilo (**15**). El siguiente intermedio (**31**) pierde un protón y un ligando Br⁻ por acción de la base K₂CO₃, dando lugar al último complejo de Pd(II) (**32**). Sobre este intermedio tiene lugar una eliminación reductora que permite la regeneración de la forma activa del catalizador y la liberación del (5-tosil-5*H*-pirrolo[2,3-*b*]pirazin-2-il)-carbamato de etilo (**2**).



Esquema 12: Mecanismo de la reacción de Buchwald-Hartwig.

4. Parte experimental

4.1. Generalidades

4.1.1. Condiciones de trabajo

Todas las reacciones se han llevado a cabo bajo atmósfera inerte de nitrógeno y empleando disolventes secos. Los reactivos utilizados son comerciales y se adquirieron con el mejor grado de pureza posible, por lo que no han requerido purificación previa a su uso.

El seguimiento de las reacciones se hizo por cromatografía en capa fina (TLC), utilizando placas de gel de sílice sobre soporte de aluminio, una lámpara de luz ultravioleta ($\lambda=254$ nm) y disolución reveladora de vainillina.

4.1.2. Reactivos

2-amino-3,5-dibromopirazina	$C_4H_3Br_2N_3$	CAS	24241-18-7
Yoduro de cobre (I)	CuI	CAS	7681-65-4
Tetraquis(trifenilfosfina) de paladio (0)	$Pd[(C_6H_5)_3P]_4$	CAS	14221-01-3
Trietilamina	$(C_2H_5)_3N$	CAS	121-44-8
Trimetilsililacetileno	$(CH_3)_3SiC\equiv CH$	CAS	1066-54-2
Tert-butóxido de potasio	$(CH_3)_3COK$	CAS	865-47-4
Cloruro de tosilo	$CH_3C_6H_4SO_2Cl$	CAS	98-59-9
Carbamato de etilo	$NH_2COOC_2H_5$	CAS	51-79-6
Carbonato de potasio	K_2CO_3	CAS	584-08-7
Acetato de paladio (II)	$Pd(OCOCH_3)_2$	CAS	3375-31-3
4,5-Bis(difenilfosfino)-9,9-dimetilxanteno (Xantphos)	$C_{39}H_{32}OP_2$	CAS	161265-03-8

4.1.3. Disolventes

Tetrahidrofurano (THF)	C_4H_8O	CAS	109-99-9
N,N-Dimetilformamida (DMF)	$HCON(CH_3)_2$	CAS	68-12-2
Tolueno	$C_6H_5CH_3$	CAS	108-88-3

4.1.4. Técnicas instrumentales

- **Espectroscopía de Resonancia Magnética Nuclear (RMN):** Se empleó esta técnica para la caracterización de los compuestos obtenidos. Los experimentos se han llevado a cabo en un espectrómetro Bruker AV-300 (300,13 MHz para 1H y 75,5 MHz para ^{13}C) empleando como disolvente dimetilsulfóxido deuterado (DMSO- d_6) o cloroformo deuterado ($CDCl_3$). Los valores de los desplazamientos químicos (δ) se expresan en partes por millón (ppm), mientras que las constantes de acoplamiento (J) en hercios (Hz). Para describir la multiplicidad de las señales

de ^1H -RMN se emplean las siguientes abreviaturas: *s* (singulete), *d* (doblete), *dd* (doble doblete), *t* (triplete), *q* (cuatriplete), *m* (multiplete). Algunas de las señales que aparecen en los espectros de ^{13}C -RMN se han comparado con el correspondiente experimento DEPT-135 para una caracterización más correcta del compuesto de interés.

- **Cromatografía en columna:** Técnica empleada para la purificación del compuesto **2**. Se utiliza una fase estacionaria polar de gel de sílice y eluyentes de diferentes polaridades conformados por diferentes proporciones en volumen de hexano:acetato de etilo (5:1, 3:1, 1:1).

4.2. Procedimiento experimental

4.2.1. Síntesis de 5-bromo-3-((trimetilsilil)etnil)pirazin-2-amina (**13**)

En un matraz de 100 mL bajo atmósfera inerte de nitrógeno se añadieron 2-amino-3,5-dibromopirazina (1 equiv, 8 mmol, 2,023 g), CuI (0,012 equiv, 0,096 mmol, 0,018 g), Pd(PPh₃)₄ (0,0019 equiv, 0,015 mmol, 0,018 g), Et₃N (3,05 equiv, 24,4 mmol, 3,4 mL) y trimetilsililacetileno (1,1 equiv, 8,8 mmol, 1,2 mL), y se disolvió todo en 10 mL de THF. La mezcla se dejó agitando a temperatura ambiente durante 4 horas, hasta que el análisis por TLC mostró el fin de la reacción. En ese momento se filtró sobre celita el contenido del matraz y se eliminaron los disolventes en el rotavapor. Tras secar el crudo en la bomba de vacío, los espectros de RMN mostraron que el compuesto **13** (Figura 10) se había obtenido con un grado de pureza suficiente como para continuar con la síntesis, por lo que la purificación no fue necesaria.

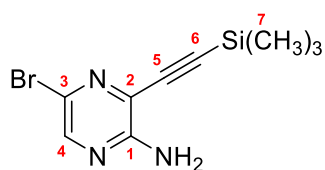


Figura 10: 5-bromo-3-((trimetilsilil)etnil)pirazin-2-amina (**13**)

Fórmula molecular: C₉H₁₂BrN₃Si

Peso molecular: 270,21 g/mol

Rendimiento: Cuantitativo

Aspecto: Sólido marrón

R_f: 0,18 (Hexano/AcOEt 3:1)

^1H -RMN (300 MHz, DMSO-*d*₆) δ ppm: 8,10 (s, 1H, H₄), 6,80 (s, 2H, NH₂), 0,23 (s, 9H, H₇).

¹³C–RMN (75 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 155,9 (C, C₁), 144,6 (CH, C₄), 123,1 (C, C₂), 122,5 (C, C₃), 103,1 (C, C₅), 99,0 (C, C₆), -0,4 (3 CH₃, C₇).

4.2.2. Síntesis de 2-bromo-5-tosil-5H-pirrolo[2,3-b]pirazina (14)

En un matraz de 100 mL bajo atmósfera inerte de nitrógeno se disolvió el compuesto **13** (1 equiv, 7,5 mmol, 2,02 g) en 15 mL de DMF. Una vez disuelto, el matraz se introdujo en un baño de agua-hielo y se añadió lentamente ^tBuOK (1,5 equiv, 11,25 mmol, 1,26 g). Tras dejar la mezcla agitando durante 3 horas y comprobar por TLC que la reacción había terminado, se adicionó el TsCl (1 equiv, 7,5 mmol, 1,43 g) manteniendo el matraz sobre el baño de agua-hielo, y se dejó agitar durante 1 hora más. Una vez finalizada la reacción, el contenido del matraz se filtró con celita, se adicionaron 20 mL de una disolución saturada de NaCl, y se realizó una extracción con Et₂O (3 x 15 mL). Las fases se separaron y la combinación de capas orgánicas se lavó con NaCl_(ac, sat) (3 x 15 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Finalmente, se eliminaron los disolventes en el rotavapor, y tras secar el crudo en la bomba de vacío, los espectros de RMN mostraron que el compuesto **14** (Figura 11) se había obtenido con un grado de pureza suficiente como para continuar con la síntesis, por lo que la purificación no fue necesaria.

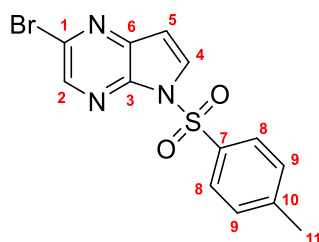


Figura 11: 2-bromo-5-tosil-5H-pirrolo[2,3-b]pirazina (14)

Fórmula molecular: C₁₃H₁₀BrN₃O₂S

Peso molecular: 352,21 g/mol

Rendimiento: 50%

Aspecto: Sólido marrón-anaranjado

R_f: 0,21 (Hexano/AcOEt 3:1)

¹H–RMN (300 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 8,55 (s, 1H, H₂), 8,35 (d, J=4,2 Hz, 1H, H₄), 7,95 (d, J=8,5 Hz, 2H, H₈), 7,41 (d, J=8,6 Hz, 2H, H₉), 6,99 (d, J=4,1 Hz, 1H, H₅), 2,31 (s, 3H, H₁₁).

¹³C–RMN (75 MHz, DMSO-d₆) δ ppm: 146,4 (C, C₃), 141,6 (C, C₁₀), 140,1 (C, C₇), 138,9 (CH, C₂), 135,8 (C, C₁), 133,9 (CH, C₄), 133,0 (C, C₆), 130,4 (CH, C₉), 127,6 (CH, C₈), 105,9 (CH, C₅), 21,2 (CH₃, C₁₁).

4.2.3. Síntesis de (5-tosil-5H-pirrolo[2,3-b]pirazin-2-il)-carbamato de etilo (2)

En un matraz de 100 mL bajo atmósfera inerte de nitrógeno se añadieron el compuesto **14** (1 equiv, 1,5 mmol, 0,528 g), K₂CO₃ (2,4 equiv, 3,6 mmol, 0,498 g), carbamato de etilo (1,2 equiv, 1,8 mmol, 0,160 g), Pd(OAc)₂ (0,0063 equiv, 0,0095 mmol, 0,002 g) y Xantphos (0,016 equiv, 0,024 mmol, 0,014 g), y se disolvió todo en 10 mL de tolueno. El sistema se calentó a 110 °C durante 24 horas, hasta que el análisis por TLC mostró el fin de la reacción. Una vez transcurrido este tiempo, la mezcla de reacción se dejó enfriar, se añadieron 20 mL de agua y se realizó una extracción líquido-líquido con Et₂O (3 x 15 mL). Las fases se separaron y la combinación de capas orgánicas se lavó con NaCl_(ac, sat) (3 x 15 mL) y se secó sobre Na₂SO₄ anhidro. Una vez eliminados los disolventes en el rotavapor y secado el crudo en la bomba de vacío, el compuesto **2** (Figura 12) se purificó mediante columna cromatográfica (Hexano/AcOEt 5:1).

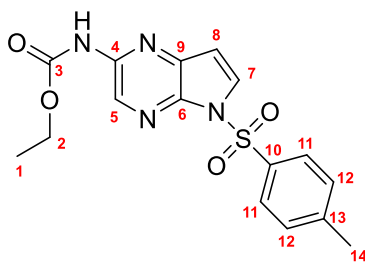


Figura 12: (5-tosil-5H-pirrolo[2,3-b]pirazin-2-il)-carbamato de etilo (2)

Fórmula molecular: C₁₆H₁₆N₄O₄S

Peso molecular: 360,39 g/mol

Rendimiento: 35%

Aspecto: Aceite amarillento

R_f: 0,11 (Hexano/AcOEt 3:1)

¹H-RMN (300 MHz, CDCl₃) δ ppm: 9,13 (s, 1H, NH), 8,04 - 8,00 (m, 3H, H₅, H₁₁), 7,92 (d, J=4,1 Hz, 1H, H₇), 7,28 (d, J=8,0 Hz, 2H, H₁₂), 6,65 (d, J=4,1 Hz, 1H, H₈), 4,26 (q, J=7,1 Hz, 2H, H₂), 2,37 (s, 3H, H₁₄), 1,30 (t, J=7,1 Hz, 3H, H₁).

¹³C-RMN (75 MHz, CDCl₃) δ ppm: 153,2 (C=O, C₃), 145,9 (C, C₄), 145,7 (C, C₆), 138,7 (C, C₁₃), 137,8 (CH, C₅), 135,0 (C, C₁₀), 130,7 (CH, C₁₂), 130,3 (CH, C₁₁), 130,0 (CH, C₇), 128,1 (C, C₉), 105,5 (CH, C₈), 62,1 (CH₂, C₂), 21,8 (CH₃, C₁₄), 14,6 (CH₃, C₁).

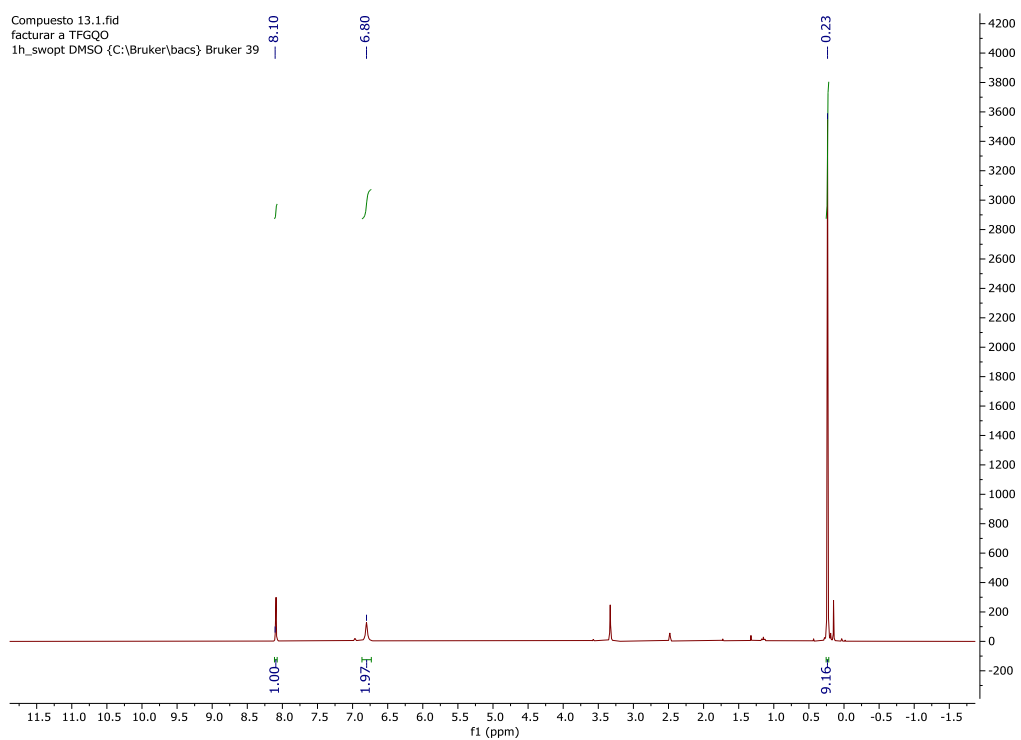
5. Conclusiones

- Se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica acerca del fármaco Upadacitinib que ha permitido identificar una ruta sintética hacia la molécula objetivo de este trabajo que es el (5-tosil-5*H*-pirrolo[2,3-*b*]pirazin-2-il)-carbamato de etilo.
- La ruta sintética elegida para acceder a la molécula objetivo consta de cuatro etapas partiendo de la 2-amino-3,5-dibromopirazina. Así, en primer lugar se llevó a cabo una reacción de acoplamiento de Sonogashira con trimetilsililacetileno que permitió la obtención de una alquinamina que se transformó en una pirrolo[2,3-*b*]pirazina en dos pasos de reacción consecutivos que implicaron una ciclación aniónica y posterior protección de uno de los nitrógenos de la molécula. Finalmente, una reacción de acoplamiento de Buchwald-Hartwig permitió acceder al producto final.
- Todos los intermedios de reacción, así como el producto final, fueron perfectamente caracterizados a través de experimentos de Resonancia Magnética Nuclear.
- Finalmente, el desarrollo de este trabajo permitió identificar la importancia que tienen las reacciones de acoplamiento cruzado catalizadas por paladio, aquí personalizadas en las reacciones de Sonogashira y Buchwald-Hartwig, en el contexto del desarrollo de fármacos.

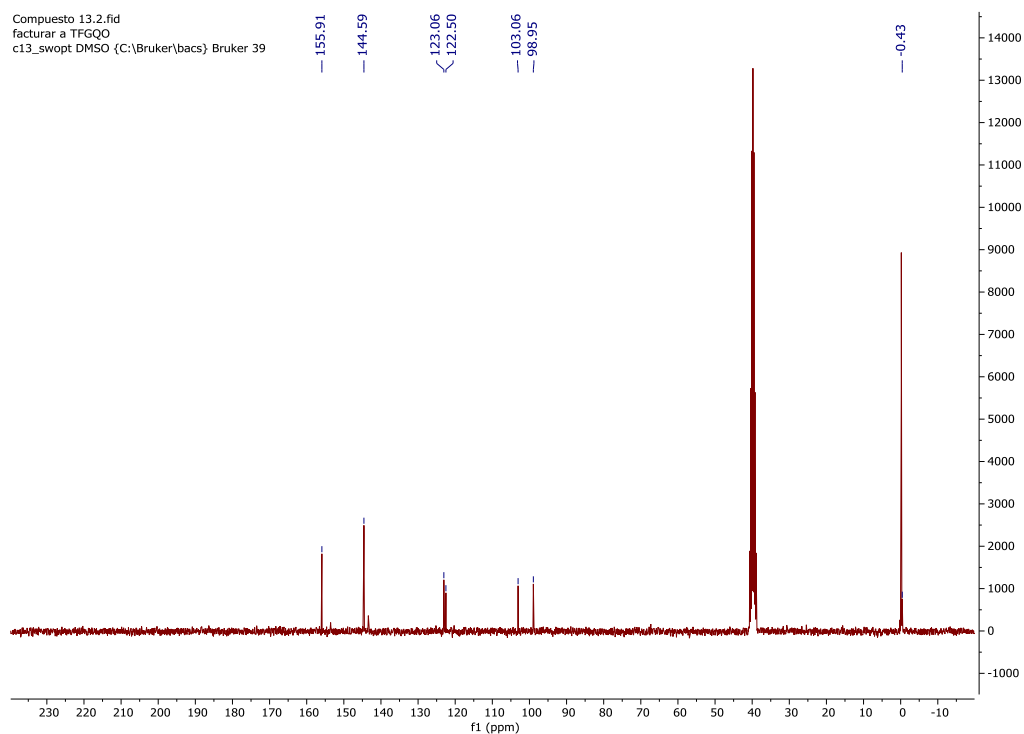
6. Bibliografía

- (1). S. Duggan, S.J. Keam, *Drugs*, **2019**, *79*, 1819-1828.
- (2). P. Vollhardt, N. Schore, *Química Orgánica: Estructura y Función. Quinta edición*, W.H. Freeman, Estados Unidos, **2007**.
- (3). *Inforeuma, Artritis reumatoide: qué es, síntomas, diagnóstico y tratamiento*, **2022**, <https://inforeuma.com/enfermedades-reumaticas/artritis-reumatoide/> (consultada por última vez el 9 de julio de 2023)
- (4). C. Weng, L. Xue, Q. Wang, W. Lu, J. Xu, Z. Liu, *Ther Adv Musculoskel Dis*, **2021**, *13*, 1-13
- (5). M.J. Rozema, L. Bhagavatula, A. Christesen, T.B. Dunn, A. Ickes, B.J. Kotecki, J.C. Marek, E. Moschetta, W.H. Morrill, M. Mulhern, M. Rasmussen, T. Reynolds, S. Yu, *Org. Process Res. Dev.*, **2022**, *26*, 949-962.
- (6) R. Chinchilla, C. Nájera, *Chem. Rev.*, **2007**, *107*, 874-922.
- (7) J.J. Li, *Name Reactions: A Collection of Detailed Reaction Mechanisms. Segunda edición*, Springer, Estados Unidos, **2003**, 384.
- (8) C. Koradin, W. Dohle, A.L. Rodríguez, B. Schmid, P. Knochel, *Tetrahedron*, **2003**, *59*, 1571-1587.
- (9) J.F. Hartwig, M. Kawatsura, S.I. Hauck, K. Shaughnessy, L.M. Alcazar-Roman, *J. Org. Chem.*, **1999**, *64*, 5575-5580.
- (10) V.M. Chernyshev, O.V. Khazipov, M.A. Shevchenko, D.V. Pasyukov, J.V. Burykina, M.E. Minyaev, D.B. Eremin, V.P. Aranikov, *Organometallics*, **2022**, *41*, 1519-1531

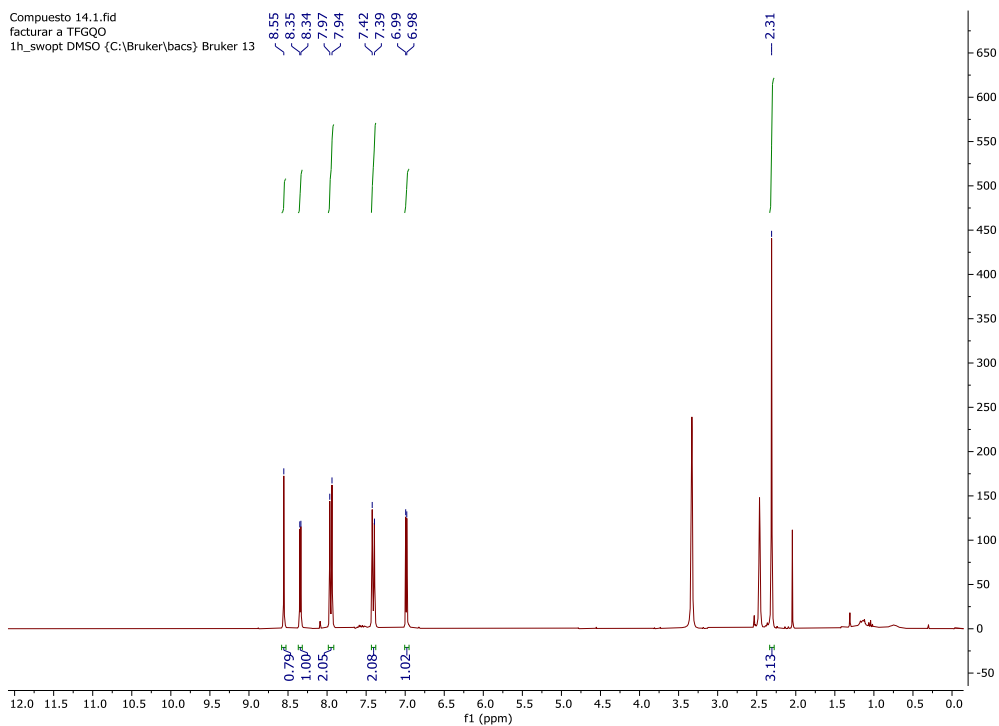
7. Anexos



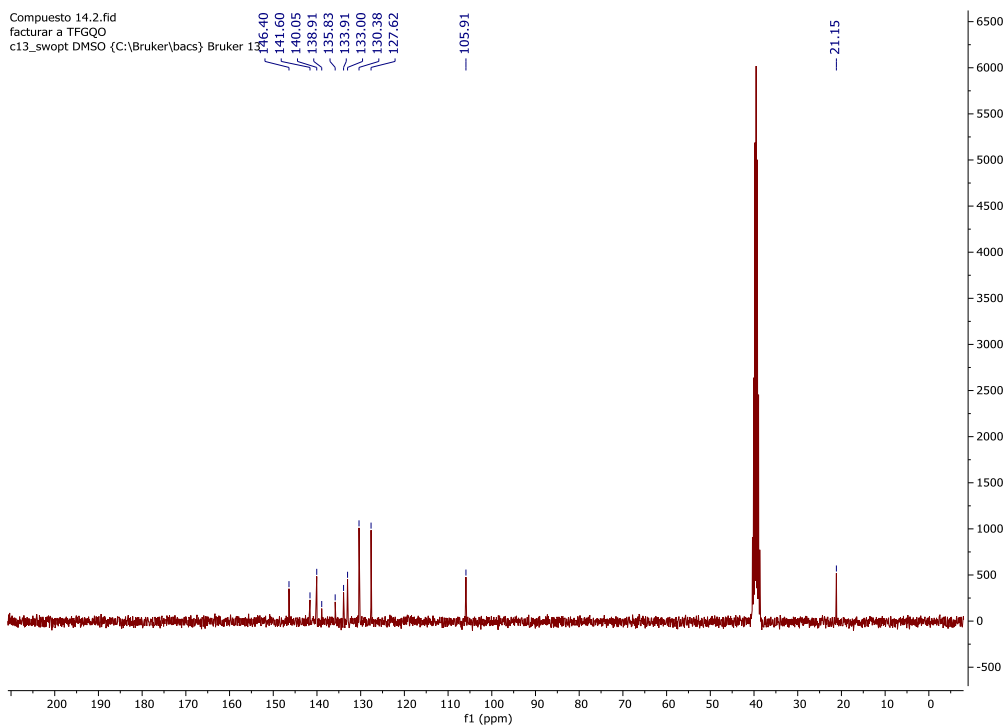
Anexo 1: Espectro de ^1H -RMN del compuesto 13



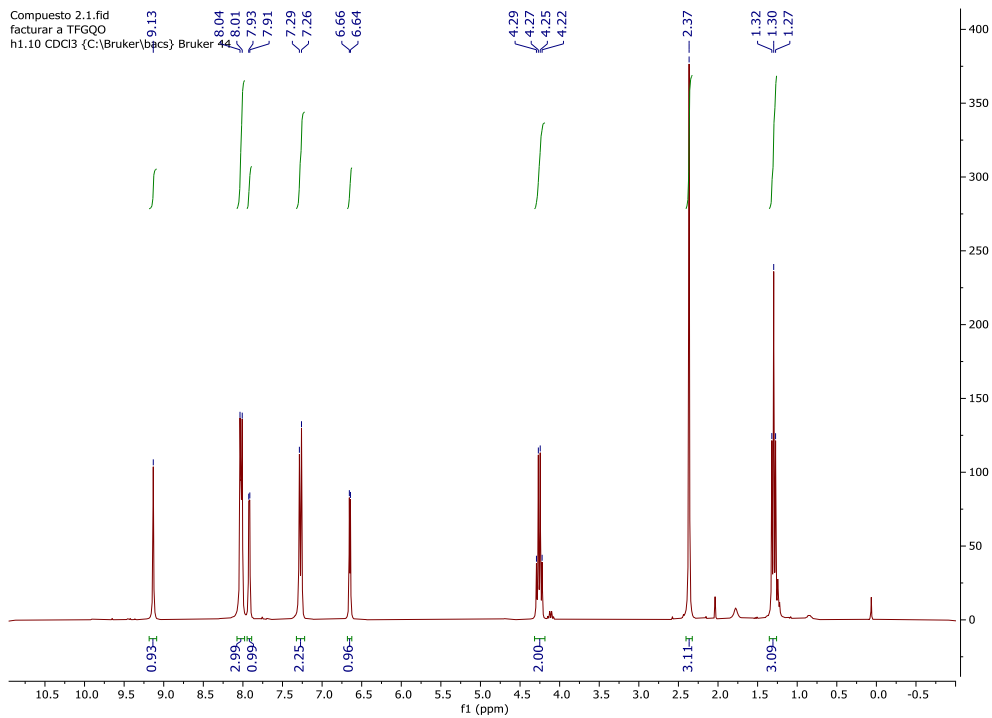
Anexo 2: Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 13



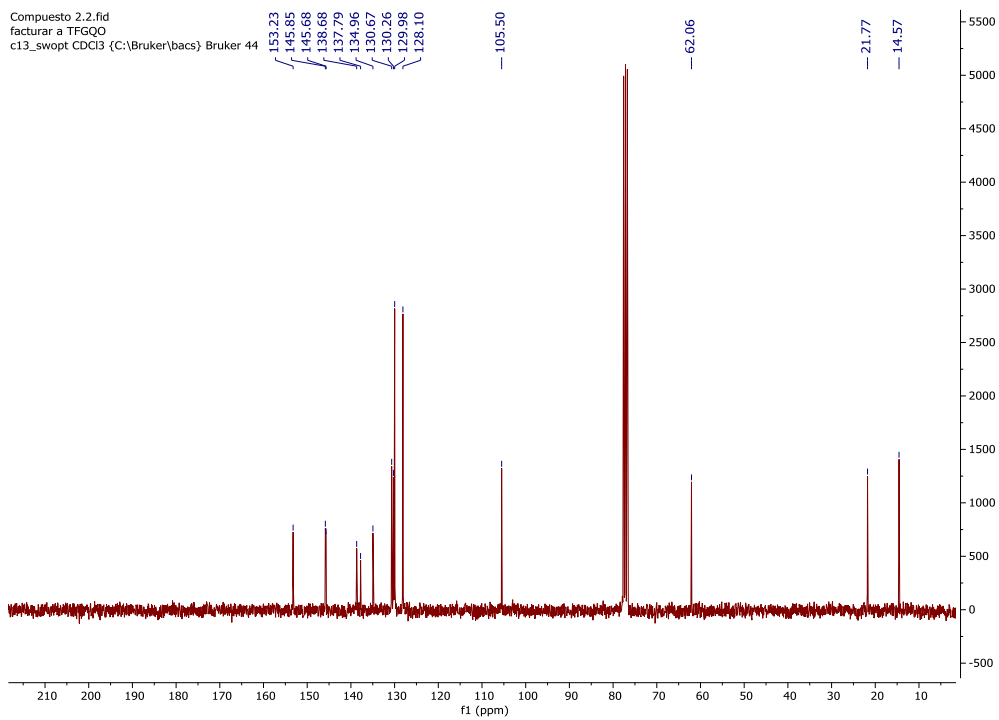
Anexo 3: Espectro de ^1H -RMN del compuesto 14



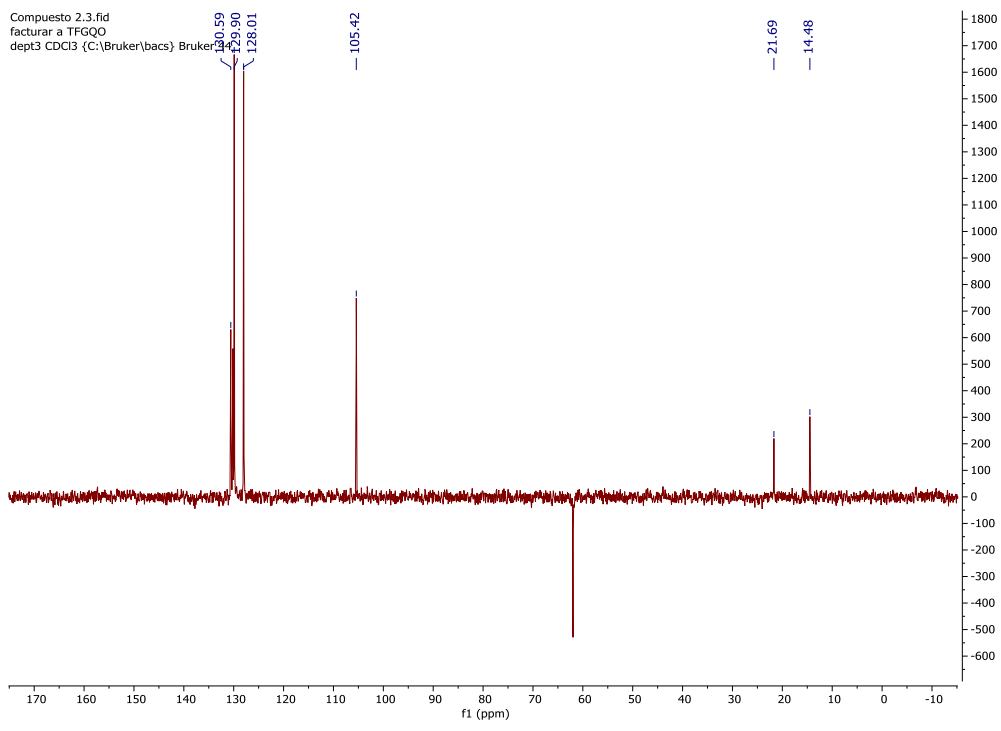
Anexo 4: Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 14



Anexo 5: Espectro de ^1H -RMN del compuesto 2



Anexo 6: Espectro de ^{13}C -RMN del compuesto 2



Anexo 7: Espectro del experimento DEPT del compuesto 2