

Tesi doctoral presentada per En/Na

Eulàlia PIÑOL OLLÉ

amb el títol

**" Disseny, síntesi i avaluació d'inhibidors de
dimerització de la proteasa del VIH-1"**

per a l'obtenció del títol de Doctor/a en

FARMÀCIA

Barcelona, 20 de juny del 2007.

Facultat de Farmàcia
Departament de Farmacologia i Química Terapèutica



UNIVERSITAT DE BARCELONA



ÍNDEX	i
ABREVIACIONS	vii
1. INTRODUCCIÓ I OBJECTIUS	3
1.1 Síndrome de la immunodeficiència adquirida (SIDA)	3
1.2 La proteasa del VIH-1	17
1.3 Precedents del grup	38
1.4 Objectius	41
2. SÍNTESI DELS PSEUDODIPÈPTIDS	45
2.1 Síntesi de l'oxazolopiperidona 80	45
2.2 Síntesi de l'espirolactam 81	53
2.3 Síntesi del lactam de Freidinger 82	68
2.4 Recapitulació	
	73
3. SÍNTESI I ESTUDI CONFORMACIONAL DE DERIVATS D'AZABICICLO- [3.3.0]OCTANONA	77
3.1 Síntesi de derivats d'azabicciclo[3.3.0]octanona	78
3.2 Anàlisi conformacional	95
3.3 Recapitulació	99
4. DISSENY I SÍNTESI DELS INHIBIDORS DE DIMERITZACIÓ DE LA HIV-1 PR	103
4.1 Disseny dels inhibidors	103
4.2 Antecedents sintètics	104
4.3 Planificació de la síntesi dels inhibidors	105
4.4 Síntesi dels inhibidors patró	108
4.5 Síntesi dels inhibidors de tipus I i II	115
4.6 Recapitulació	121
4.7 Annex	123
5. ASSAIGS BIOLÒGICS AMB ELS INHIBIDORS SINTETITZATS	131
5.1 Expressió de la HIV-1 PR en <i>E. Coli</i>	131
5.2 Fluorimetria	139
5.3 Assaigs <i>in vivo</i>	152
5.4 Estudis de microcalorimetria	160
5.5 Recapitulació	166

5.6 Annex	167
6. RESUM I CONCLUSIONS	173
7.1 Resum	173
7.2 Conclusions	174
7. PART EXPERIMENTAL	177
7.1 Experimental Capítol 2	177
7.2 Experimental Capítol 3	195
7.3 Experimental Capítol 4	212
7.4 Experimental Capítol 5	235
8. ESPECTRES	245
8.1 Espectres Capítol 2	245
8.2 Espectres Capítol 3	268
8.3 Espectres Capítol 4	297
9. GRÀFICS DE FLUORESCÈNCIA	307

ABREVIACIONS

2-Nal	2-naftilalanina	DMAP	<i>N,N</i> -4-dimetilaminopiridina
Ac	acetil	DME	1,2-dimetoxietà
Ac₂O	anhídrid acètic	DMF	<i>N,N</i> -dimetilformamida
AcCl	clorur d'acetil	DMSO	dimetilsulfòxid
ACN	acetonitril	DPPA	difenilfosforil azida
AcOH	àcid acètic	dt	doblet de triplets
Act	grup activant	DTT	ditiotreitòl
ADN	àcid 2-desoxiribonucleic	<i>E. Coli</i>	<i>Escherichia Coli</i>
Al·loc	al·liloxicarbonil	EDANS	àcid 5-[(2'-aminoetil)amino]- naftalensulfònic
ARN	àcid ribonucleic	EDCI	hidroclorur d'1-etil-3-(3'-di- metilaminopropil)carbodiimida
ARV	<i>AIDS related virus</i>	EDTA	àcid etilendiamintetracètic
Bip	bifenilalanina	ee	excés enantiomèric
Boc	<i>tert</i> -butoxicarbonil	EM	espectrometria de masses
(Boc)₂O	dicarbonat de <i>ditert</i> -butil	eq.	equivalent
BOP	hexafluorofosfat de benzotriazol-1-iloxi- tris(dimetilamino)fosfoni	Et	etil
BSA	albúmina de sèrum boví	Et₂O	èter dietílic
BTD	<i>β</i> -turn dipeptide	EtOH	etanol
BTTP	<i>tert</i> -butilimino-tri(pirrolidino)- fosforà	FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
Bu	butil	Fmoc	9-fluorenilmetoxicarbonil
Cbz	benziloxicarbonil	Fmoc-OSu	9-fluorenilmetoxicarbonil- <i>N</i> - hidroxisuccinimida
Cha	ciclohexilalanina	FPLC	<i>Fast protein liquid chromatography</i>
Chg	ciclohexilglicina	FRET	<i>Fluorescence Resonance Energy Transfer</i>
CMeO₂	metilcisteïnsulfona	gp	glicoproteïna
d	doblet	HAART	Highly active anti-retroviral therapy
DABCYL	àcid 4-[4-(dimetilamino)fenil]- azo]benzoic	HBTU	hexafluorofosfat de <i>O</i> - (benzotriazol-1-il)- <i>N,N,N',N'</i> - tetrametiluroni
DBU	1,8-diazabicyclo[5.4.0]undec- 7-è	HIV-1 PR	Proteasa del virus de la immunodeficiència humana 1
DCC	diciclohexilcarbodiimida	Hfe	homofenilalanina
DCM	diclorometà	HOAt	1-hidroxi-7-azabenzotriazole
dd	doblet de doblets	HOBt	1-hidroxibenzotriazole
ddd	doble doblat de doblets		
DEAD	azodicarboxilat de dietil		
DIBAL-H	hidru de diisobutilalumini		
DIEA	diisopropiletilamina		
DIPCDI	diisopropilcarbodiimida		

HPLC	Cromatografia líquida d'alta resolució	PNB	<i>p</i> -nitrobenzil
HTLV-III	Human T-cell Leukemina Virus Type III	ppb	parts per bilió
IN	Integrasa	ppm	parts per milió
IPTG	isopropil- β -D-tiogalactòsid	PR	Proteasa
^tPrOH	isopropanol	PTSA	àcid <i>p</i> -toluensulfònic
IR	infraroig	PyBOP	hexafluorofosfat de benzotriazol-1-il- <i>N</i> -oxi-tris(pirrolidin)fosfoni
ITC	<i>Isothermal titration calorimetry</i>	q	quadruplet
KHMDS	bis(trimetilsilil)amida de potassi	RMN	Ressonància mangètica nuclear
LB	<i>Luria broth</i>	SDS	dodecilsulfat de sodi
LDA	diisopropilamidur de liti	SIDA	Síndrome de la immunodeficiència adquirida
m	multiplet	SPPS	Síntesi peptídica en fase sòlida
MALDI	<i>Matrix-assisted laser desorption ionisation</i>	t	triplet
<i>m</i>-ARN	ARN missatger	t.a.	temperatura ambient
MBHA	4-metilbenzhidrilamina	TBAB	bromur de tetra- <i>N</i> -butilamoni
MeCN	acetonitril	^tBu	<i>tert</i> -butil
MeOH	metanol	^tBuOH	<i>tert</i> -butanol
MS	espectrometria de masses	TEMED	<i>N,N,N',N'</i> -tetrametilendiamina
MsCl	clorur de mesil	TEMPO	radical lliure de 2,2,6,6-tetrametil-1-piperidiniloxi
MTT	bromur de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazoli	Tf	trifluorometansulfonil
NaI	naftilalanina	TFA	àcid trifluoroacètic
NMM	<i>N</i> -metilmorfolina	TFMSA	àcid trifluorometansulfònic
NNRTI	Inhibidors no nucleosídics de la transcriptasa reversa	THF	tetrahidrofurà
n.O.e.	nuclear Overhauser effect	Thx	tiroxina
NRTI	Inhibidors nucleosídics de la transcriptasa reversa	TIS	triisopropilsilà
Paf	4-aminofenilalanina	TMANO	<i>N</i> -òxid de trimetilamina
PAGE	Electroforesi en gel de poliacrilamida	TMS	trimetilsilà
Ph	fenil	TR	Transcriptasa reversa
Phe (3,4-F₂)	3,4-difluorofenilalanina	Trt	tritol
Phe (4-NO₂)	<i>p</i> -nitrofenilalanina	Tyr (3-NO₂)	3-nitrotirosina
PhF	9-fenil-9 <i>H</i> -fluorenil	Tyr (OBz)	<i>O</i> -benzyltirosina
Phth	ftaloïl	VIH	Virus de la immunodeficiència humana
PI	Inhibidors de la proteasa	VIS	Virus de la immunodeficiència del simi
PLE	Esterasa de fetge porcí		

Aminoàcid			Estructura	Aminoàcid			Estructura
Àcid aspàrtic	Asp	D		Isoleucina	Ile	I	
Àcid glutàmic	Glu	E		Leucina	Leu	L	
Alanina	Ala	A		Lisina	Lys	K	
Arginina	Arg	R		Metionina	Met	M	
Asparagina	Asn	N		Prolina	Pro	P	
Cisteïna	Cys	C		Serina	Ser	S	
Fenilalanina	Phe	F		Tirosina	Tyr	Y	
Glutamina	Gln	Q		Treonina	Thr	T	
Glicina	Gly	G		Triptòfan	Trp	W	
Histidina	His	H		Valina	Val	V	