



Masarykova cesta 16, 1000 Ljubljana

T: 01 400 52 00

F: 01 400 53 21

Povzetek projekta »Razvoj sinteze zdravilne učinkovine in njenih nečistoč«

1. PODATKI O OPERACIJI

OPERACIJA (ISARR šifra)	OP13.2.1.8.01.0047
Naziv operacije:	Raziskovalci na začetku kariere-2013-UL FFa-711

2. VSEBINSKO POROČILO O OPERACIJI

I. Opis operacije

V okviru projekta Razvoj sinteze zdravilne učinkovine in njenih nečistoč, ki je potekal v sodelovanju s podjetjem Lek farmacevtska družba d.d. v laboratorijih oddelka Organske sinteze Lekovega Razvojnega centra Slovenije na lokaciji v Mengšu v času od 15.1.2014 do 30.6.2015, smo s skrbno načrtovano in v skladu s QbD (Quality By Design) metodologijo sistematično izvedeno študijo uspešno optimizirali izbrano sintezno pot za pripravo učinkovine z antidepressivnim delovanjem, hkrati pa smo uspešno pripravili tudi željeno fizikalno obliko spojine in s projektom zaključili na začetku stopnje prenosa razvitega proces na pilotno proizvodnjo.

II. Doseženi rezultati operacije

Delo na projektu smo začeli s Fazo 1: Razvoj sinteznega procesa. V Fazi 1a smo se posvetili razvoju posameznih sinteznih stopenj za pripravo končne učinkovine. Uspeli smo razviti 3 stopenjsko sintezno pot brez uporabe toksičnega katalizatorja v prvi stopnji in cenenimi izhodnimi surovinami, pri čemer je bil izkoristek posamezne sintezne stopnje >70%. Z nadaljnjo študijo reakcijskih parametrov, izvedbe procesa in izvedbe izolacije v sklopu Faze 1b smo nato reakcijske in izolacijske pogoje dodatno optimizirali in izkoristka prvih dveh stopenj dvignili na >95%, izkoristek tretje stopnje pa na zadovoljivih >80%. Faza 1c je bila namenjena testiranju izhodnih surovin različnih proizvajalcev v postavljeni 3 stopenjski sintezni poti in nadaljnji pretvorbi dobljene HCl soli učinkovine v HBr sol. V

tež stopnji smo izbrali reaktante, regente in topila tistih proizvajalcev, ki so z vidika čistoti omogočali pripravo najkvalitetnejše učinkovine v skladu z ICH smernicami (znane nečistote < 0.15%, neznane nečistote < 0.10%). S končnim namenom prenosa sinteznega procesa v proizvodnjo smo nato z izbranimi surovinami posamezne sintezne stopnje prenesli na kilogramsko skalo (Faza 1d), pri tem pa spremljali morebitne kritične parametre končnega procesa kot so eksotermnost reakcij pri delu z večjimi količinami, hitrost filtracij, količina odpadnih topil in trdnih odpadkov. Z večkratno uspešno potrditvijo, da se sinteza na kilogramski obnaša ekvivalentno kot na laboratorijski skali in rezultira v enako kvalitetnem produktu smo izpolnili vse cilje Faz 1a-1d in hkrati potrdili tehnološko izvedljivost procesa na industrijskem nivoju.

Sočasno s Fazo 1 je potekala razvojna Faza 2: Določitev končne kvalitete. V sklopu Faze 2b smo se posvetili pripravi nečistot, ki smo jih tekom treh sinteznih stopenj evidentirali z uporabljenimi UPLC kromatografsko metodo za spremljanje naših reakcij in z molsko maso definirali s sklopljenimi sistemi HPLC-MS in GC-MS. Priprava večine nečistot prisotnih v intermediatih 1 in 2 je bila enostavno in uspešno izpeljana iz nabavljenih čistih spojin, ki so v izhodnih surovinah nastopale kot nečistote. Za pripravo aromatske hidroksilaminske nečistote, ki je vmesna stopnja pri redukciji o-nitroaromatskega intermedata 1 v o-anilinski intermediat 2, in za pripravo ključnih nečistot, ki so nastajale tekom pretvorbe intermedata 2 v surovo HCl sol končnega produkta, smo porabili bistveno več časa, saj smo morali najti ustrezne reakcijske pogoje v primeru redukcije in razviti popolnoma novo sintezno pot v primeru ključnih nečistot tretje stopnje, pri čemer je bila trem izmed teh zaradi njihove na genotoksičnost nakazujoče strukture tekom razvoja posvečena še posebna pozornost. Uspešna priprava potencialno genotoksičnih nečistot je skupaj z ostalimi nečistotami omogočila natančno analitsko karakterizacijo končnega produkta v Fazi 2b in sočasno potekajočo fino optimizacijo reakcijskih pogojev v Fazi 1, kar je rezultiralo v zagotavljanju ustrezne kvalitete končnega produkta in posledično v uspešno zaključeni Fazi 2c. Vse sintezne stopnje so bile sočasno z njihovo optimizacijo v Fazi 1 in analitsko podporo v Fazi 2 sistematično obravnavane s QbD pristopom. Tekom posameznih sinteznih stopenj in analitskega razvoja so bili tako obravnavani vsi parametri procesa in produkta, ki bi lahko vplivali na izvedljivost procesa in končno kvaliteto produkta ter s tem na riziko njegove ustreznosti za uporabo. Na ta način smo uspešno identificirali kritične parametre, jih nato tekom razvoja evalvirali in podali rešitve za minimalizacijo njihovega vpliva na kvaliteto končnega produkta. S tem smo uspešno zaključili Fazo 2d.

Kot najpomembnejša lastnost učinkovine, ki bo doprinesla k uspešnemu trženju končnega generičnega zdravila, je bila identificirana njena fizikalna oblika. V zgodnjih fazah razvoja se je največ časa namenilo pripravi adsorbata, torej fizikalni obliki pri kateri je učinkovina adsorbirana na inertni nosilec, nadaljnji razvoj pa je bil opuščen zaradi neuspele vezave zadostnih količin učinkovine na nosilec. Na podlagi znanih študij kristalnih lastnosti končne učinkovine, ki so pokazale, da lahko spojina kristalizira v večih polimorfnih oblikah, je bil nato kot fizikalna oblika za razvoj izbran polimorf 4, ki spada med metastabilne polimorfe. Produkt ustrezne kvalitete v obliki polimorfa 2, ki je bil sicer

pripravljen po neoptimiziranem postopku, smo uspeli pretvorili v polimorf 4, tega pa nismo uspeli ponoviti s polimorfom 2 pripravljenim po optimiziranem postopku. Retrospektivna analiza polimorfa 2 pripravljene po neoptimiziranem postopku je pokazala, da je le-ta v dovoljenih mejah vseboval tri nečistote iz sinteznega postopka, kar je dalo vedeti, da je vsaj ena izmed teh nečistot tista, ki s svojimi lastnostmi in vpletanjem v proces kristalizacije omogoča pretvorbo v polimorf 4. Ustrezna nečistota je bila uspešno identificirana kar je omogočilo nadaljno optimizacijo pretvorbe med polimorfoma. Z uporabo polimorfa 2, ki te nečistote ni vseboval, in dodajanjem za proces sprejemljivih aditivov, kar nečistota iz sinteze ni, smo nečistoto uspešno zamenjali z neionskimi surfaktanti. Proces pretvorbe polimorfa 2 v polimorf 4 je bil nadalje z vrsto ekperimentov optimiziran z vidika parametrov in izkoristka procesa ter iz gramske prenešen na sto gramsko skalo. S pripravo željene fizikalne oblike končne učinkovine ustrezne kakovosti smo uspešno zaključili tudi Fazo 1e.

Faza 2e, študij procesnih tveganj in vplivov na okolje, je tekla od začetka do konca prenosa sinteznega procesa iz laboratorijske na kilogramsko skalo. Uspešno smo ovrednotili in dokumentirali vse parametre procesa, ki bi se lahko pri prenosu na pilotni in proizvodni nivo izkazali za kritične, hkrati pa smo ovrednotili tudi količino tekom procesa proizvedenih odpadnih topil in trdnih odpadkov.

Projekt je v sodelovanju z oddelkoma RAFU (Razvoj analitike farmacevtskih učinkovin) in RPFU (Razvoj procesov farmacevtskih učinkovin) nemoteno tekkel skozi vse v prijavnih vlogi navedene faze. Morebitna manjša odstopanja od časovnic opredeljenih v prijavnih vlogi so bila posledica spreminjanja prioritet tekom živega in kompleksnega razvoja priprave učinkovine, te spremembe pa niso imele nikakršnega vpliva na uspešno izvedbo vseh faz in doseg vseh zastavljenih ciljev. Izvajanje projekta je vzpostavilo raziskovalno okolje in izboljšalo povezavo med Fakulteto za farmacijo in Lek farmacevtsko družbo d.d. Projekt je omogočil vključevanje podjetja v sooblikovanje raziskovalne dejavnosti raziskovalca na začetku kariere, njegovo nadaljnje izobraževanje ter v končni fazi medsektorsko mobilnost, saj se je raziskovalec po koncu projekta v sodelujočem podjetju zaposlil. S tem je izvedeni projekt dosegel namen in cilje javnega razpisa, ki je njegovo izvedbo omogočil.

Projekt se izvaja v okviru Operativnega programa razvoja človeških virov za obdobje 2007 – 2013, 1. razvojne prioritete »Spodbujanje podjetništva in prilagodljivosti prednostne usmeritve« 1.1. »Strokovnjaki in raziskovalci za konkurenčnost podjetij«, v okviru potrjene operacije »Raziskovalci na začetku kariere«.