

Szteroidkémiiai kutatás-fejlesztés a Richter Gedeon Nyrt.-ben

MAHÓ Sándor,* GREINER István, CSÖRGEI János, SÁNTA Csaba, SÖRÖS Béla
és LEDNECZKI István

Richter Gedeon Nyrt., Gyömrői út 19-21., 1103 Budapest, Magyarország

1. Bevezetés

A Richter Gedeon Nyrt. Magyarország egyetlen olyan gyógyszervállalata, ahol magas színvonalú K+F tevékenység zajlik a szteroidok területén. Társaságunk a megalapítása óta állít elő szteroid hatóanyag tartalmú termékeket, kezdetben organoterápiás készítményeket, melyek állati vagy növényi eredetű természetes szteroid hatóanyagokat tartalmaztak. Később természetes szteroid hatóanyagok felszintetikus gyártása is megindult, majd a II. világháború után, az 1950-es években indult el újra a szteroidok szintézise.¹ A Társaságnál kifejlesztett originális gyógyszerek hatóanyagainak (Depersolon® (hatóanyag: mazipredon-hidroklorid),^{2,3} Arduan® (USA: Arpilon®) (hatóanyag: pipekurónium-bromid)^{4,5}) szintézisei mellett, a reprogenerikus időszakban több, már ismert hatóanyag szintézise is megvalósult. A 60-as években alapozódott meg a Társaság nőgyógyászati termékportfóliója, amelynek jelentős mérföldköve lett a Kelet-Európában elsőként törzskönyvezett fogamzásgátló készítmény, az Infecundin (1966, hatóanyagai: noretinodrel és mesztranol⁶). A készítmény neve utalt Ludwig Haberlandt harmincas években végzett antifertilitás kutatásaira, melynek során, az együttműködésük eredményeként Richter Gedeon innovatív gyártóként tervezett készítményt gyártani „Infecundin” néven.^{7,8} A nőgyógyászatban alkalmazott készítmények mellett, a Társaság stratégiájához illeszkedően, más terápiás területeken használt szteroid hatóanyagú termékek gyártása és kutatás-fejlesztése is folyik a Richter Gedeon Nyrt.-ben.

2. Szteroidkémiiai kutatás-fejlesztési tevékenységek

A szteroid innováció egyik helyszíne a szteroidkémiiai kutatásra dedikált Szteroid Szintetikus Laboratórium, melynek tevékenységét példákön keresztül mutatjuk be. Korábban, az 1990-es és a 2000-es évek elején is születtek hasonló témájú publikációk, melyekben bemutattuk fontosabb eredményeinket.⁹⁻¹¹ Az azóta eltelt egy-két évtized során született innovatív eredményeink szabadalmakon és publikációkon keresztül újfent gazdagították az alkalmazott szerves kémia tudományát. Az alábbiakban a teljesség igénye nélkül soroljuk fel laboratóriumunk főbb tevékenységi területeit.

2.1. Originális kutatás és ehhez kapcsolódó hatóanyag fejlesztés

Társaságunk több mint 110 éves története alatt mindig elkötelezett volt az innováció irányába. Ennek ma egyik stratégiai fontosságú eleme a központi idegrendszeri terápiás területre koncentráló kismolekulás eredetű kutatás, amely az ötlettől a törzskönyvezésig tartó teljes folyamatot lefedi. Eredeti kutatásunk ugyanakkor egy másik stratégiai

területre, a nőgyógyászati kutatásokra is kiterjed, és a klinikai kutatások mellett a hatóanyag kémiai fejlesztését és a készítményfejlesztést fedi le.^{12,13}

2.2. Generikus hatóanyag fejlesztés

Társaságunk magas színvonalú szteroid hatóanyag és készítménygyártó üzemekkel rendelkezik, melyekben innovatív technológiákat is alkalmazunk, így azok lehetővé teszik bármilyen szteroid termék előállítását. A hagyományoknak és a stratégiánknak megfelelően generikus szteroid termékek fejlesztése is folyik Társaságunknál, melyeket természetesen saját hatóanyag forrásra alapozva végzünk.

2.3. Hatóanyag kémiai fejlesztés stratégiai együttműködésben, a partner cégek részére

Társaságunk világszerte ismert szteroid hatóanyag- és készítménygyártó-forgalmazó cég. Több gyógyszeripari vállalattal alakítottunk ki stratégiai partneri viszonyt, együttműködéseink döntő hányada innovatív termékek létrehozására irányul. Ennek egyik elemeként szteroid K+F és gyártói tudásunk és kapacitásunk felhasználásával a partner originális termékéhez hatóanyag kémiai fejlesztést és gyártást is végzünk.

2.4. Termékgondozás

A szteroid hatóanyagot tartalmazó gyógyszerekre jellemző a hosszú életgörbe. Társaságunknál például van olyan szteroid termék is, melyet már 45 éve folyamatosan gyártunk. A környezetvédelmi, biztonságtechnikai, gyógyszerbiztonsági, minőségi és gazdaságossági követelmények változása miatt azonban rendszeres időközönként szükséges a technológiai folyamat és az analitikai módszerek felülvizsgálata, változtatása.

2.5. Szennyezők és bomlástermékek szintézise

Mind a hatóanyagok, mind a készítmények esetén elengedhetetlenül szükséges és fontos, hogy a termékre jellemző szennyezőket és bomlástermékeket felderítsük, előállításukra módszert dolgozzunk ki és laboratóriumi méretben legyártssuk. Intermediereknél is fel kell deríteni a melléktermékeket és vizsgálni azok átalakulását és megjelenését a következő intermedier vagy hatóanyag szennyezőjeként. Sok szennyező és bomlástermék standardja a finomvegyeszer katalógusokból beszerezhető, de még több ilyen speciális vegyületet csak saját laboratóriumi előállításunkon keresztül tudunk biztosítani. Intermedier szennyezők esetén a beszerezhetőséget illetően még nehezebb a helyzet. Ezen vegyületek előállítása a legtöbb

* Tel.: 36-1-4315332; fax: 36-1-4315978; e-mail: s.maho@richter.hu

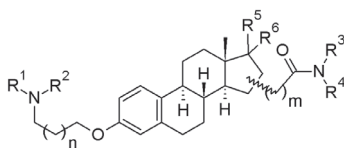
esetben bonyolultabb, mint a hatóanyag szintézise és igazi kémiai kihívás.

3. A szteroidkémiai kutatás-fejlesztési tevékenységek bemutatása sikeres K+F projekteken keresztül

A 2.1-2.5 pontokban felsorolt kutatás-fejlesztési tevékenységekre példákat hozunk néhány K+F projekt bemutatásával. A projektek többsége nem csak egy fentebb leírt tevékenységet ölel fel.

3.1. Hisztamin H_3 antagonisták kutatása

Az originális kutatás terén elért eredményeink egyik szép példája a Társaságunknál folyó központi idegrendszeri kutatáshoz kapcsolódik. Hisztamin H_3 receptor antagonisták/inverz agonisták kutatása során elvégeztük a Társaság vegyülettárának (amely számos diverz, szteroidvázas anyagot is tartalmaz) nagy áteresztőképességű tesztelését (HTS-t). Ennek eredményeként nitrogéntartalmú szteránvázás „hit” molekulákat azonosítottunk, melyek szerkezetéből és in vitro biológiai tulajdonságaiból kiindulva a modern, hatásmechanizmus alapú gyógyszerkémiai kutatás mentén sikerült olyan vegyületcsaládot (1. ábra) felfedeznünk, melynek egyik képviselőjét kiválasztottuk preklinikai fejlesztésre.¹⁴



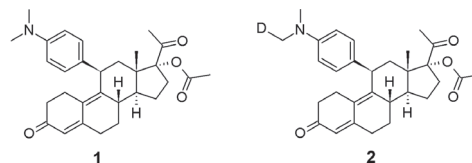
1. Ábra. Hisztamin H_3 receptor antagonista ösztratrién-karboxamidok általános képlete.

R^1, R^2 és R^3, R^4 alkilcsoportok
 $R^5, R^6=H$, alkoxi, OH, oxocsoport
 $n=0-2$, $m=0-1$

3.2. Uliprisztál-acetát

2012. február 27-én a Richter Gedeon Nyrt. bejelentette, hogy az Európai Gyógyszerügyi Hatóság megadta az 5 mg-os ESMYA® tabletta forgalomba hozatali engedélyét méhmióma enyhe és súlyos tüneteinek pre-operatív kezelésére.¹⁵ További sikeres klinikai vizsgálatok alapján az Európai Bizottság engedélyezte az 5 mg-os Esmya® tablettát méhmiómák szakaszos, hosszú távú kezelésére, melyet Társaságunk 2015. május 28-án jelentett be.¹⁶ Az ESMYA® (hatóanyaga: uliprisztál-acetát, 1) first-in-class gyógyszer, orálisan aktív szelektív progesteron receptor modulátor, amely reverzibilisen blokkolja a progesteron receptorokat a célszövetben.¹⁷ Az uliprisztál-acetát hatóanyag szintézisére több szintézisutat dolgoztunk ki, melyek egyike egy másik progesteron receptor modulátor, a telaprisztón-acetát szintézisével részben közös volt¹⁹ (a szintézist ld. a 3.6. pontnál.). A kémiai fejlesztés során mind a hatóanyag, mind az olyan intermedierek esetében, amelyek tartalmazták a 11-es helyzetben a 4-dimetilaminofenil csoportot, egy különös analitikai problémával szembesültünk: egy közel 0,1%-os „szennyezőt” detektáltunk a HPLC vizsgálatok során, amely a vizsgált molekula nitrogénhez kapcsolódó metilcsoportban

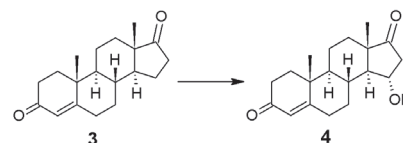
deutériumot tartalmazó izotopológjának (2) bizonyult.^{20,21} Ilyen nagy molekulák esetén korábban még nem figyeltek meg rutin HPLC vizsgálatok során ilyen jelenséget. A jelenség valószínű oka a pKa érték megváltozása az N-metil pozícióban történt hidrogén-deutérium csere következtében, ez már oly mértékű változás, amely a modern héjszerkezetű HPLC töltetek jobb felbontóképessége miatt elválasztást eredményez. A továbbiakban nem kell szennyezésként számolni a 2 elválasztott izotopológgal.



2. Ábra. Uliprisztál-acetát (1) és „szennyezésként” szeparált deutérium izotopológia (2).

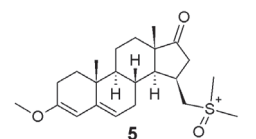
3.3. Drospirenon

Az egyik legsikeresebb generikus hatóanyag fejlesztésünk a drospirenon (14) progesztogén hatóanyag előállításához kapcsolódik. Míg az originátor dehidroepiandrosteronból kiindulva állítja elő a hatóanyagot, mi androsztendion (3) fermentációs hidroxilálásával jutunk egy olyan intermedierekhez, a 15 α -hidroxi-androsztendionhoz (4), amely megfelelő kiindulási anyag a szintézishez²² (2. ábra).

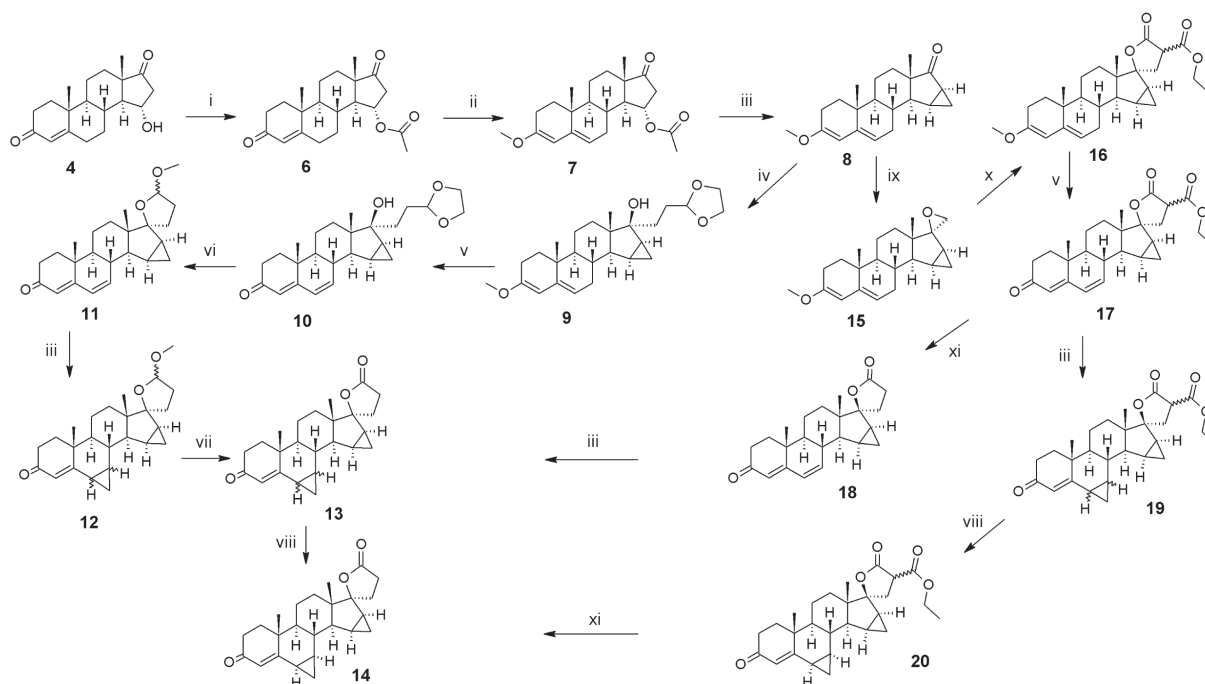


3. Ábra. 15 α -Hidroxi-androsztén-dion (4) előállítása fermentációval.

A hidroxilcsoport acetilezését követően a 3-oxo-4-én molekularészt enoléterként védjük, ez a védelem később alkalmas lesz a 6-os helyzetű kettőskötés kialakításához. A Corey-reakció kidolgozásánál izoláltunk egy, az irodalomban korábban le nem írt átmeneti terméket (5), melynek szerkezete alátámasztja a reakció mechanizmusát (4. ábra). A spirolakton gyűrű kialakítása alkil-lítiummal történő reakcióval, vagy spiroepoxid malonészterrel történő reakciójával történhet. A két megoldás hasonló intermediereknek (9, 16) oxidációs reakciójával kapott 3-oxo-4,6-dién vegyületek (11, 17, 19) Corey-reakciójával egy izomer keverékhez jutunk, melynek preparatív HPLC módszerrel történő tisztításával jutunk a hatóanyaghoz (14) (5. ábra). Az itt vázolt szintézis az originátor eljárásait követően a drospirenon hatóanyag első független, szabadalmaztatott ipari szintézise.^{23,24} A hatóanyag sikeres szintéziséén túl a készítményfejlesztés is sikeres innováció volt.²⁵



4. Ábra. A Corey-reakció során izolált, reakció-mechanizmust bizonyító átmeneti termék.

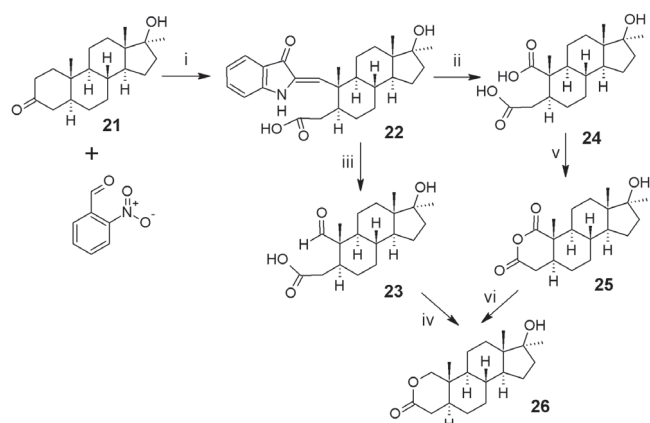


5. Ábra. A drospirenon (14) előállítása.

i: Ac_2O , ii: $\text{HC}(\text{OMe})_3$, H^+ , iii: $\text{Me}_3\text{OS}^+\text{T}$, KOH , iv: 2-(2-brómetil)-1,3-dioxolán, Li , v: 2,3,5,6-tetraklór-1,4-benzokín, vi: MeOH , HCl , vii: Jones-oxidáció, viii: prep. HPLC, ix: $\text{Me}_3\text{S}^+\text{T}$, KOH , x: dietil-malonát, NaOMe , xi: NaCl , H_2O , DMF , 130°C .

3.4. Oxandrolon

Az oxandrolon egy anabolikus szteroid, amely a többi anabolikumtól eltérő módon metabolizálódik.²⁶ Az Oxandrin® (Savient Pharmaceuticals) hatóanyaga. Az oxandrolon hatóanyag molekulájában (26) az A-gyűrű 2-es pozíciójában egy oxigénatom van lakton szerkezet részeként. A szakirodalmból ismert eljárásokban mesztanolon (21) nevű szteroidvegyületből kiinduló szintézis során 1-es helyzetű kettőskötést építenek ki, majd ozmium-tetroxid és ólom-teraacetát alkalmazásával, vagy ozonolízissel egy aldehyd-karbonsav vegyületen keresztül állítják elő



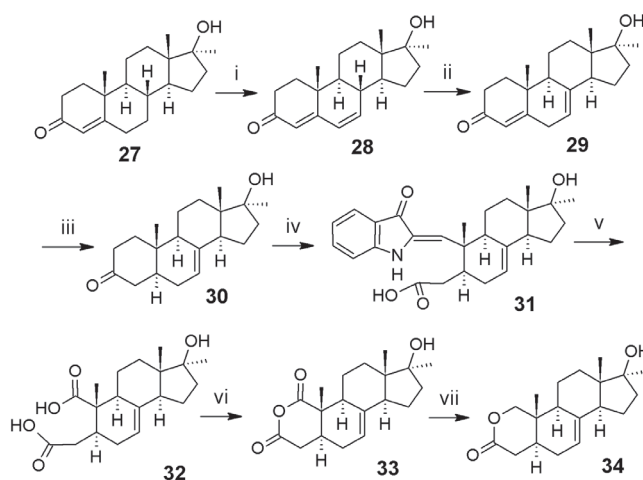
6. Ábra. Oxandrolon (26) előállítása.

i: KOH , ii: 1,5 mólekv. KMnO_4 , NaOH , iii: 3 mólekv. KMnO_4 , NaOH , iv: 1: NaBH_4 , 2: H_2SO_4 , v: Ac_2O , THF , iv: 1: NaBH_4 , DMF , 2: H_2SO_4

a hatóanyagot. Az ismert szintézisek reprodukcióját követően úgy döntöttünk, hogy alapvetően új szintézissel próbálkozunk. A kiindulási mesztanolont (21) alkálikus közegben 2-nitro-benzaldehiddel reagáltattuk, az aldol-kondenzációt követően többlépéses intramolekuláris redoxi

reakció eredményeként felhasadt a szteránváz 2,3 szén-szén kötése és egy olyan karbonsavhoz (22) jutottunk, amely egy hasítható kettőskötést tartalmazott. A kettőskötés hasítását kálium-permanganáttal különböző körülmények között végezve vagy az ismert aldehyd-karbonsavhoz (23), vagy egy új dikarbonsav származékhoz (24) jutottunk.²⁷ A dikarbonsav 22 anhidriddé alakítva, majd redukálva regiospecifikus reakcióban oxandrolonná (26) alakul.²⁸

A hatóanyagra vonatkozóan az amerikai gyógyszerkönyvi monográfiában lévő kevésbé pontos vékonyréteg-kromatográfiás tisztaság vizsgálati módszer²⁹ felváltására a Társaságunknál kifejlesztett HPLC módszert javasoltuk.³⁰



7. Ábra. Δ^7 -oxandrolon (34) előállítása.

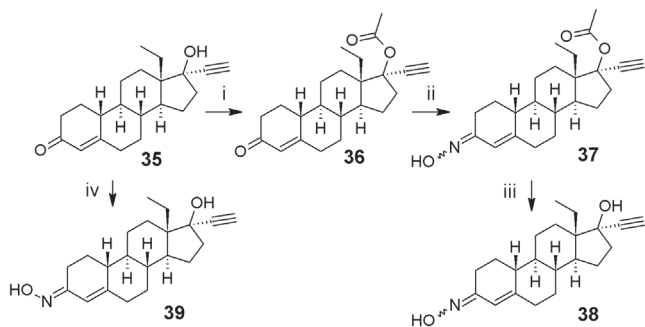
i: DDQ, ii: 1: KO^tBu , 2: H^+ , iii: Li , NH_3 , -33°C , iv: 2-nitro-benzaldehid, KOH , v: KMnO_4 , NaOH , vi: Ac_2O , THF , iv: 1: NaBH_4 , DMF , 2: H_2SO_4

A fejlesztés során komoly problémát okozott számunkra egy oxidációs melléreakció során képződő szennyező,

melyet izolálni nem sikerült, de kristályosításos dúsítással tömegarányát 0,4% mértékűre sikerült emelni (HPLC módszerrel történő mérés UV detektálást alkalmazva 210 nm hullámhosszon értékelve analitikai túlértékeltségét később hatvanszorosra mértük a hatóanyagra nézve), majd NMR módszerrel valószínűsítettük szerkezetét. A szennyezőt szintézise (7. ábra) után tudtuk egyértelműen beazonosítani.

3.5. Norgesztimét, Norelgesztromin

A norgesztimét (norgestimate, **37**) az Ortho-cyclen®, Ortho Tri-cyclen® (Ortho Pharmaceutical, Johnson and Johnson) tabletták hatóanyaga, a norelgesztromin (norgestromin, **38**) pedig az Ortho Evra® (Ortho Pharmaceutical, Johnson and Johnson) nevű fogamzásgátló tapasz hatóanyaga. Mindkét vegyület "prodrug", oximizomerek amorf keveréke, a levonorgesztrel, mint aktív hatóanyag, metabolizmus útján szabadul fel. Mindkét hatóanyag esetében az originátorral egyeztetve végeztük a hatóanyagok kémiai fejlesztését, majd gyártását. A hatóanyagok kiindulási anyaga a Társaságunknál totálszintézissel gyártott levonorgesztrel (8. ábra). A hatóanyagokra és a norelgesztromin eltérő felszívódású oximizomerjeinek nagy tisztaságban történő előállítására innovatív eljárásokat dolgoztunk ki.^{31,32} A norelgesztromin E-izomerje (**39**) levonorgesztrelből direkt úton is előállítható nagy tisztaságban.

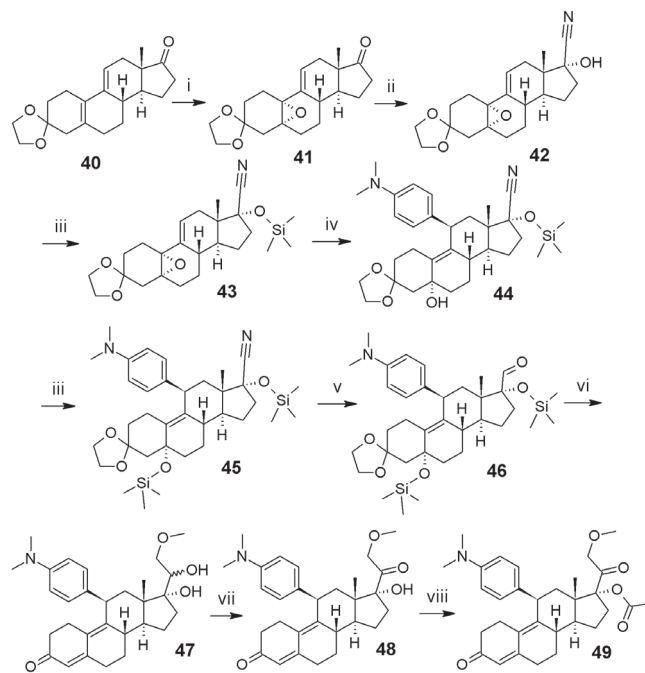


8. Ábra. Norgesztimét (**37**) és norelgesztromin (**38**) előállítása.
i: Ac_2O , HClO_4 ; ii: H_2NOH ; iii: LiOH ; iv: H_2NOH , HOAc

3.6. Telapriszton-acetát

A telapriszton-acetát (CDB-4124) egy új, fejlesztés alatt álló progeszteron receptor modulator, melynek endometriózis és méhfibrózis indikációkban folynak klinikai vizsgálatai. A hatóanyag előállítására ipari eljárást (9. ábra) dolgoztunk ki a Repros Therapeutics-szal együttműködve.³³ A totálszintézissel előállított intermediérből (**40**) kiinduló eljárás kritikus lépése a metoximetil-csoport beépítése metoximetil-magnézium-kloriddal, amely nagyon hőérzékeny, ezért a klasszikus Grignard-reakcióval nem állítható elő. A sikeres kivitelezéshez katalitikus mennyiségű higanysóval kell a magnézium felületét amalgámolni és így sikerült a terméket alacsony hőmérsékleten előállítanunk.

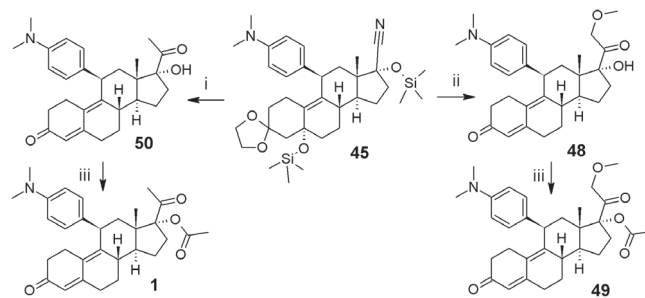
A fentebb ismertetett eljárás nagy hátránya a higanyó használata. Mivel a minőségügyi és környezetvédelmi elvárásokat csak rendkívüli nehézségekkel sikerült teljesíteni, az eljárás további fejlesztésre szorult. A megoldást a metoximetil-lítium reagens előállítása és alkalmazása jelentette. Ez a reagens olyan reakcióképes, hogy már a nitrilcsoporttal is reagál, így lényegesen lerövidült a szintézis.³⁴ A megváltozott szennyezésprofil és a tisztaság



9. Ábra. Telapriszton-acetát (**49**) előállítása.

i: H_2O_2 , Cl_3CCOCl ; ii: HCN ; iii: TMSCl , imidazol; iv: 4-dimetilaminofenil-magnézium-bromid, CuCl ; v: DIBAH ; vi: 1: $\text{MeOCH}_2\text{MgCl}$, 2: KHSO_4 ; vii: DMSO , DCC , TFA , Py ; viii: Ac_2O , HClO_4

javulása morfológiai területen is hozott eredményeket, ugyanis két kristály-módosulatot is sikerült előállítanunk.^{35,36} A nitril-csoport metil-lítiummal is reagáltatható különleges körülmények között, így hatóanyag gyártástechnológiai okok nem akadályozzák az uliprisztál-acetát³⁷ és telapriszton-acetát³⁴ eljárás összevonását (10. ábra).



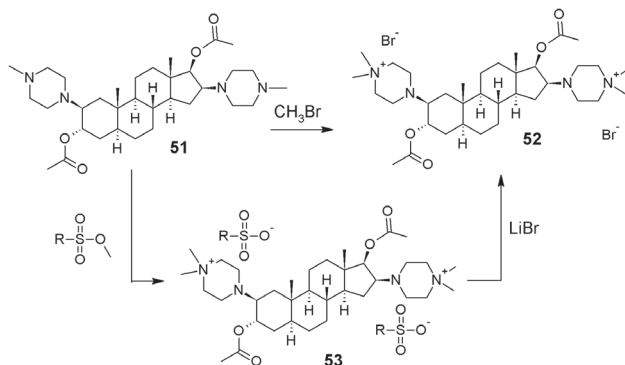
10. Ábra. Uliprisztál-acetát (**1**) és telapriszton-acetát (**49**) előállítása közös intermediérből.

i: MeLi , $\text{Me}_2\text{N}(\text{CH}_2)_2\text{NMe}_2$; ii: MeOCH_2Li ; iii: Ac_2O , HClO_4

3.7. Pipekurónium-bromid

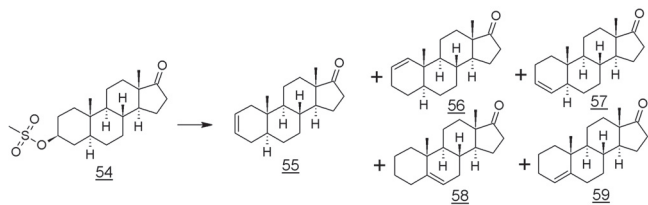
A pipekurónium-bromid hatóanyagot tartalmazó ARDUAN® Társaságunk eredeti terméke.^{4,5} A hatóanyag szintézis utolsó lépésében metil-bromidot alkalmazunk, amely teljesen beépül a molekulába. Azonban a 94/2003 (2003.07.02.) Kormányrendelet az ózonreagáló károsító gázok ipari felhasználásáról megnehezíti a pipekurónium-bromid hatóanyag gyártás során felhasznált metil-bromid beszerzését és felhasználását. Laboratóriumunk olyan megoldást talált, amely kiküszöböli a fenti reagenst. Az eljárás lényege az, hogy a kvaternizációs lépést alkil-, vagy arilszulfonsav-metilészterrel végezzük, majd lítium-bromiddal hajtjuk végre az anion cseréjét bromidionra.³⁸

Az eljárás a vekurónium-bromid hatóanyag előállítására is alkalmas. A két reakciót „egy edényben” is végre lehet hajtani (11. ábra).



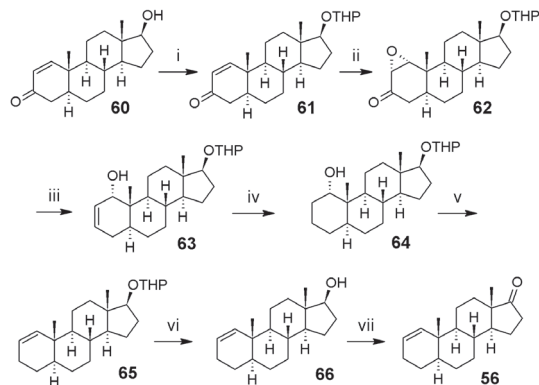
11. Ábra. A pipekuronium-bromid (52) szintézis zárólépése.

Környezetvédelmi és biztonságtechnikai szempontból a pipekuronium-bromid gyártás egyik intermediérjénél is szükség volt a technológia „gondozására”. Az eliminációs lépés ideális oldószere a benzol volt, melyet néhány apróbb változtatással toluolra cseréltünk. A megváltozott körülmények között nem csak a fő melléktermék (57), hanem az eliminációs melléktermékek aránya is megnövekedett³⁹ (12. ábra). A tisztítási lépés és a következő reakciólépéseknél alkalmazott tisztítási eljárások során tudtuk teljes mértékben ezeket a melléktermékeket és a belőlük keletkező szennyezőket („carry-over impurity”) az intermedierek mellől eltávolítani.



12. Ábra. A pipekuronium-bromid szintézis eliminációs lépésének főterméke (55) és melléktermékei.

A fenti melléktermékeket ugyan sikerült tisztán előállítanunk, de jelentős kihívást jelentett a Δ^1 -izomer (56) szintézise. A 60 vegyületből kiindulva nem a bizonytalan kimenetelű



13. Ábra. Az 56 eliminációs melléktermék szintézise.

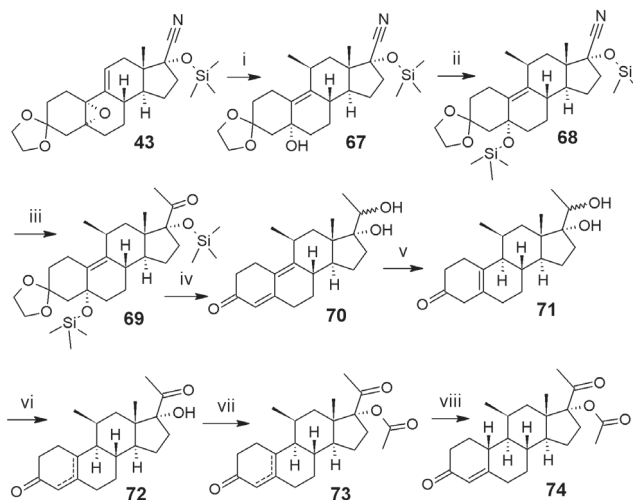
i: 3,4-dihidro-2H-pirán, H^+ ; ii: H_2O_2 , OH⁻; iii: H_2N_2 , Δ ; iv: H_2 /Pd-C, $POCl_3$, Py; vi: H^+ ; vii: Jones-ox.

deoxigénezéssel reakcióutakat^{40,41} követtük, hanem epoxidálással, majd a 62 vegyület Wharton-reakciójával egy olyan hidroxilcsoportot építettünk ki, amely szelektíven eliminálható volt (13. ábra).

3.8. Norgesztomet

A norgesztomet (74) ismert progesztin hatóanyag, melyet az állatgyógyászatban önmagában, vagy ösztradiol-monobenzoáttal kombinálva ciklusszabályozásra alkalmaznak. Az első, a szabadalomban leírt szintézis a szteroidkémia hőskorából származik, és a kapcsolódó szabadalmi eljárásokkal együtt a 11-keto-tigogenin-acetáttól indulva 26 lépést tartalmaz, mely teljesen alkalmatlan az ipari megvalósításra.⁴²⁻⁴⁵

Üzleti megfontolásoktól vezetve új, innovatív eljárást dolgoztunk ki ennek az viszonylag egyszerű vegyületnek a nagy kihívást jelentő szintézisére.⁴⁶ Kiindulási anyagként a progeszteron receptor modulátorok szintézisének is alkalmazott 43 epoxid-származékot választottuk. A 11 β helyzetű metilcsoport beépítését konjugált Grignard-reakcióval végeztük, majd a kialakuló hidroxilcsoport további védelmét követően metileztük a nitrilcsoportot és a 69 intermediérhez jutottunk. A 20-as oxocsoport redukciója, majd a védőcsoportok eltávolítása után a 9-es szénatom redukcióját fém lítiummal folyékony ammóniában hajtottuk végre. A 71 vegyület Swern-oxidációját és a 17-es hidroxilcsoport acetilezését követően sósavas kezeléssel tettük teljessé az 5(10) kettőskötés konjugációját (14. ábra).



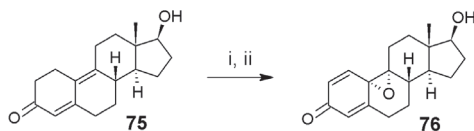
14. Ábra. A norgesztomet (74) szintézise.

i: MeMgCl, CuCl; ii: TMSCl, imidazol; iii: MeLi; iv: 1: $NaBH_4$, 2: $KHSO_4$; v: Li, NH_3 , $-40^\circ C$; vi: DMSO, $PySO_3$; vii: Ac_2O , $HClO_4$; viii: HCl

3.9. Ösztradiol

Mind a hatóanyagok, mind a készítmények esetében vizsgálni kell a bomlástermékek keletkezését, mennyiségüket. A kockázatkezelés és a pontos mennyiségi-minőségi meghatározás is igényli a bomlástermékek standardként történő előállítását. Az ösztradiol hatóanyagban és az ösztradiol tartalmú készítményekben oxidatív bomlások következnek be állás során. A vizsgálatok során egy az irodalomban eddig le nem írt bomlásterméket is azonosítottunk, majd előállításának (15. ábra) kidolgozása

során sikerült a bomlási folyamatot megértenünk, felderíteniünk⁴⁷.



15. Ábra. Ösztradiol bomlástermék (76) előállítása.

i: metilénkék, tetrafenil-porfirin, hv; ii: prep. HPLC

Köszönetnyilvánítás

A hivatkozásokban felsorolt publikációk és szabadalmak Richterhez kötődő szerzői és feltalálói mellett az alábbi kollégáknak fejezzük ki köszönetünket: Dr. Gazdag Mária, Kováts Sándor†, Kovácsné Dr. Kozsda Éva, Mezei Istvánné, Costin Camarasu.

Hivatkozások

1. Dr. Csontos Jolán, Dr. Fekete György, Kováts Tibor, Dr. Löw Miklós, Pillich Lajos, Dr. Takács István, *A Richter Gedeon Rt. 100 éves története*, Medicina Könyvkiadó: Budapest, **2001**.
2. Tuba Z., Szporny L., Tóth J. (Richter Gedeon Vegyészeti Gyár Rt.), Eljárás 21-es szénatomon piperazin-származékokkal helyettesített kortikoszteroidok előállítására, HU150,350 sz. magyar szabadalom, 1961, Patent US 3,123,598; 1964; *Chem. Abstr.* **1964**, 60, 17120.
3. Tóth J., Tuba Z., Szporny L. *Nature*, **1961**, 191, 607.
4. Tuba Z., Bor D.-né Szabó M., Szeberényi Sz., Kárpáti E., Szporny L., Szepesi G. (Richter Gedeon Vegyészeti Gyár Rt.), Eljárás új bisz-piperazino-androsztán származékok előállítására, HU165,600 sz. magyar szabadalom, 1972., Patent, GB1,398,050, 1973; *Chem. Abstr.* **1974**, 80, 121210.
5. Tuba, Z., Synthesis of 2b,16b-bis-(4'-dimethyl-1'-piperazino)-3a,17b-diacetoxy-5a-androstane dibromide and related compounds, *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **1980**, 30(2A), 342-346.
6. Tóth E., Kovatsits M., Görög S. (Richter Gedeon Vegyészeti Gyár Rt.): Eljárás szteroidok etinil-származékainak előállítására, HU154,610 sz. magyar szabadalom, 1966, Patent DE1,668,615, 1967, *Chem. Abstr.* **1973**, 79, 79059.
7. Haberlandt, E.: Ludwig Haberlandt – A pioneer in hormonal contraception, *Wiener Klinische Wochenschrift*, **2009**, 121, 746-749.
8. Marks, L.V., *Sexual Chemistry*, Yale University Press, New Haven & London, **2001**.
9. Tuba Z., Mahó S., Horváth J., Gálik Gy., Széles J., Molnár Cs., Csörgei J., Tóth J., Szteránvázas vegyületek kutatása és fejlesztése a Richter Gedeon Rt.-ben, *Magy. Kem. Lapja.*, **1994**, 49(10-11), 418-436.
10. Tuba Z., Mahó S., Gálik Gy., Horváth J., Széles J., Tóth J., Szteránvázas vegyületek kutatása és fejlesztése a Richter Gedeon Rt.-ben I., *Magy. Kem. Lapja.*, **2001**, 56(12), 452-458.
11. Tuba Z., Mahó S., Gálik Gy., Horváth J., Széles J., Tóth J., Szteránvázas vegyületek kutatása és fejlesztése a Richter Gedeon Rt.-ben II., *Magy. Kem. Lapja.*, **2002**, 57(3), 82-85.
12. Éves jelentés / Richter Gedeon 2014
13. <http://www.richter.hu/hu-HU/rolunk/Pages/Stratégiaink.aspx>, 2016.08.22.
14. Mahó S.; Ledneczki I.; Gábor E.; Tapolcsányi P.; Kiss B.; Balázs O.; Schmidt É., (Richter Gedeon NyRt.) H3 antagonist

- szteránvázas karboxamidok, P1100453 sz. magyar szabadalmi bejelentés, 2011.; PCT: WO2013027073, 2012, *Chem. Abstr.* **2013**, 159, 134053.
15. <http://www.richter.hu/hu-HU/Befektetok/kozlemenyeke/Pages/kozlemenyeke/rendkiv120227.aspx>, 2012.02.27.
16. <https://www.richter.hu/hu-HU/Befektetok/kozlemenyeke/Pages/rendkiv150528.aspx>, 2015.05.28.
17. Donnez, J., Donnez, O., Matule, D., Ahrendt, H.-J., Hudecek, R., Zatik, J., Kasilovskiene, Z., Dumitrascu, M.C., Hervé Fernandez, Barlow, D.H., Bouchard, P., Fauser, B.C.J.M., Bestel, E., Loumaye, E., Long-term medical management of uterine fibroids with ulipristal acetate, *Fertility and Sterility*, 2016, 105(1), 165-173e4.
18. Dancsi L.-né; Visky Gy.; Tuba Z.; Csörgei J.; Molnár Cs.; Magyar E.-né (Richter Gedeon Nyrt.), Ipari eljárás 17a-acetoxi-11b-[4-(N,N-dimetil-amino)-fenil]-19-norpregna-4,9-dién-3,20-dion előállítására és új intermedierek az eljáráshoz, HU227,112 szabadalom, 2006, Patent EP2,027,140, 2007, Patent US8,110,691, 2008, *Chem. Abstr.*, **2007**, 148, 55255.
19. Mahó S., Sánta Cs.; Csörgei J.; Horváth J.; Aranyi A.; Béni Z. (Richter Gedeon NyRt.) Ipari eljárás szteroid hatóanyagok előállítására, HU230,319 sz. szabadalom, 2013, Industrial process for the synthesis of ulipristal acetate and its 4'-acetyl analogue, PCT: WO 2015049637, 2014, *Chem. Abstr.*, **2015**, 162, 514377.
20. Béni, Z., Orgoványi, J., Kóti, J., Sánta, Cs., Horváth, J., Mahó, S., Szántay, Cs. Jr., Detection by HPLC and Structural Characterization by NMR and MS of a Natural Deuterium Isotopologue of Ulipristal Acetate, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2014**, 98, 279-286.
21. Béni, Z., Structure Elucidation of a Mysterious Trace Component of Ulipristal Acetate, *In Anthrop Awareness/ The Human Aspects of Scientific Thinking in NMR Spectroscopy and Mass Spectrometry*, Szántay Cs. Jr. Ed.; Elsevier, Amsterdam, Boston, Heidelberg, New York, Oxford, Paris, San Diego, San Francisco, Singapore, Sydney, Tokyo, **2015**, pp355-365.
22. Jaksa I., Németh S., Könczöl K., Terdy L., Kozma I., Barta F. (Richter Gedeon Nyrt.), process for the selective isolation, purification and separation of monohydroxylated 3,17-diketo-steroid compounds, HU227,238 sz. szabadalom, 2006, Patent EP2,069,382, 2007, *Chem. Abstr.* **2008**, 148, 353846.
23. Sörös B., Horváth J., Gálik Gy., Tuba Z., Mahó S., Balogh G., Bódi J., Aranyi A. (Richter Gedeon Vegyészeti Gyár Rt.): Ipari eljárás 17-hidroxi-6b,7b;15b,16b-biszmethylén-3-oxo-17a-pregn-4-én-21-karbonsav-g-lakton előállítására és az eljárás kulcs-intermedierei; P0402465 számú magyar szabadalmi bejelentés, 2004, Patent EP1,817,326, 2005, Patent US8,309,712, 2007, *Chem. Abstr.* **2006**, 145, 28166.
24. Sörös B., Horváth J., Gálik Gy., Tuba Z., Mahó S., Balogh G. (Richter Gedeon Vegyészeti Gyár Rt.): eljárás 17-hidroxi-6b,7b;15b,16b-biszmethylén-17a-pregn-4-én-3-on-21-karbonsav-g-lakton előállítására és az eljárás kulcs-intermedierei; P0402466 számú magyar szabadalmi bejelentés; 2004, Patent EP1,831,239, 2005, US8,450,476, 2007, *Chem. Abstr.*, **2006**, 145, 46211.
25. Bódis A., Greiner I., Nagy Kasza, J.M. (Richter Gedeon Nyrt.) Film-coated tablets containing drospirenone as active agent and method for the preparation thereof, HU0700826 sz. szabadalmi bejelentés, 2007, Patent EP2,072,041, 2008, *Chem. Abstr.*, **2009**, 151, 86680.
26. Schänzer, W., Metabolism of anabolic androgenic steroids, *Clinical Chemistry*, 1996, 42(7), 1001-1020.
27. Sánta, Cs.; Tuba, Z.; Mahó, S.; Széles, J.; Balogh, G.; Brlik, J., Trischler, F.; Szilágyi, G.; Bakcsi, E. (Richter Gedeon

- Vegyészeti Gyár Rt.): Eljárás szteránvázas A-nor-szeko vegyületek előállítására, valamint szekoindoxilénkarbonsav-származékok, mint intermedierek, HU224,816 sz. magyar szabadalom, 1999, Patent EP1,189,885, 2000, Patent US6,448,413, 2001, *Chem. Abstr.*, **2000**, 134, 42312.
28. Sánta, Cs.; Tuba, Z.; Mahó, S.; Széles, J.; Ferenczi, K.; Horváth, P.; Láncoz, K.; Mester, T.; Trompler, Á. (Richter Gedeon Vegyészeti Gyár Rt.): Új eljárás 17b-hidroxi-17a-metil-2-oxa-5a-androsztán-3-on előállítására és intermediere, 224,817 sz. magyar szabadalom; 1999, Patent EP1,189,925, 2000; Patent US6,583,298, 2001, *Chem. Abstr.*, **2000**, 134, 42313.
 29. The United States Pharmacopeia/The National Formulary 23rd Edition, 1995, p1122
 30. Pharmacopeial Forum Vol. XX(1) [Jan.-Feb. 2006], p1-5.
 31. Tuba Z., Mahó S., Kiss J., Magyar E., Terdy L. (Richter Gedeon Vegyészeti Gyár Rt.): Process for the synthesis of high purity d-(17a)-13-ethyl-17-hydroxy-18,19-dinorpregn-4-ene-20-yn-3-one-oxime; P03 01982 sz. magyar szabadalmi bejelentés, 2003; Patent EP1,638,988, 2004; *Chem. Abstr.*, **2005**, 142, 114326.
 32. Tuba Z., Mahó S., Keserű Gy., Kozma J., Horváth J., Balogh G. (Richter Gedeon Vegyészeti Gyár Rt.): Pure d-(17a)-13-ethyl-17-hydroxy-18,19-dinorpregn-4-ene-20-yn-3-one-3E-and -3Z-oxime isomers and the pure isomers; P03 01981 sz. magyar szabadalmi bejelentés, 2003; Patent EP1,641,812, 2004, Patent US7,576,226, 2004, *Chem. Abstr.*, **2005**, 142, 114325.
 34. Sánta Cs., Széles J., Visky Gy., Csörgei J., Mahó S., Bódi J., Aranyi A., Molnár Cs., Terdy L., Tuba Z., Balogh G., Horváth Z. (Richter Gedeon Vegyészeti Gyár Rt.): Industrial method for the synthesis of 17-acetoxy-11beta-[4-(dimethylamino)-phenyl]-21-methoxy-19-norpregna-4,9-dien-3,20-dione and the key intermediates of the process; HU228,636 sz. Magyar szabadalom, 2007; Patent EP2,160,398, 2008, US8,183,402, 2009, *Chem. Abstr.*, **2009**, 150, 98524.
 35. Sánta Cs., Demeter Á., Havasi B., Mahó S. (Richter Gedeon NyRt.): Egy szteroid vegyület új kristályos módosulata és eljárás annak előállítására, P09 00171 sz. Magyar szabadalmi bejelentés, 2009, Patent EP2,408,799, 2010, Patent US8,513,228, 2011, *Chem. Abstr.*, **2010**, 153, 440578.
 36. Balázs A., Csörgei J., Demeter Á., Sánta Cs. (Richter Gedeon NyRt.) Egy szerves vegyület új kristályos módosulata és eljárás annak előállítására, P09 00487 sz. Magyar szabadalmi bejelentés, 2009, Patent EP2,462,154, 2010, Patent US8,513,228, 2011, *Chem. Abstr.*, **2010**, 153, 440578.
 37. Sánta Cs., Csörgei J., Mahó S., Szabó G., Schäfer T., Béni Z. (Richter Gedeon NyRt.) Ipari eljárás szteroid intermedierek előállítására, HU230,381 sz. magyar szabadalom, 2014, PCT: WO2015121840 (Process for the production of 21-methoxy-11-beta-phenyl-19-nor-pregna-4,9-diene-3,20-dione derivatives), *Chem. Abstr.*, **2015**, 163, 319908.
 38. Tuba Z., Mahó S., Szabó Gy., Gálík Gy., Balogh G. (Richter Gedeon Vegyészeti Gyár Rt.): Environment-friendly process for the synthesis of quaternary ammonio-steroids; HU227,522 sz. magyar szabadalom, 2004; PCT: WO2006038047, *Chem. Abstr.*, **2006**, 144, 370304.
 39. S. Görög, A. Laukó, B. Herényi, A. Georgakis, É. Csizér, G. Balogh, Gy. Gálík, S. Mahó, Z. Tuba, Analysis of Steroids XXXIX. Estimation of the Impurity Profile of 5a-Androst-2-ene-17-one, *Chromatographia*, **1988**, 26, 316-320.
 40. Bowers, A., Cross, A.D., Edwards, J.A., Carpio, H., Calzada, M.C., Denot, E., Steroids. CCV. Ring A modified hormone analogs. Part I. Some ring A olefins, *J. Med. Chem.*, **1963**, 6, 156-161.
 41. Valera, C., Tavares da Silva, E., Amaral, C., Correia da Silva, G., Baptista, T., Alcaro, S., Costa, G., Carvalho, R.A., Teixeira, N.A.A., Roleira, F.M.F., *J. Med. Chem.*, **2012**, 55, 3992-4002.
 42. G.D. Searle & Co., Patent US3,527,778, 1969, *Chem. Abstr.*: nem referálta.
 43. British Drug Houses, Patent GB912,035, 1960, *Chem. Abstr.*, **1963**, 58, 59984
 44. British Drug Houses, Patent GB912,036, 1960, *Chem. Abstr.*, **1963**, 58, 59983
 45. British Drug Houses, Patent GB912,037, 1960, *Chem. Abstr.*, **1963**, 58, 59988
 46. Mahó S., Sörös B. (Richter Gedeon NyRt.) Eljárás (11b,17a)-17-acetoxi-11-metil-3-oxo-norpregn-4-én előállítására, HU230,397 sz. magyar szabadalom, 2013, PCT: WO2015075693, *Chem. Abstr.*, **2015**, 163, 21854.
 47. Zoltán B., Viktor H., E. Varga, S. Mahó, A. Aranyi, Cs. Szántay Jr., New oxidative decomposition mechanism of estradiol through the structural characterization of a minute impurity and its degradants, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **2013**, 78-79, 183-189.

Steroid Research and Development at Gedeon Richter Plc.

Gedeon Richter Plc (GR) is the only pharmaceutical company in Hungary that has several decades of unparalleled experience in the R&D of steroid chemistry. Our company produces steroid drugs from the very beginnings. The first steroid experiments were conducted by the company's founder, Gedeon Richter himself and from that time many products with steroidal active pharmaceutical ingredients (APIs) have been produced. At the beginning organotherapy remedies containing steroids (animal or plant origin) were manufactured and later it was followed by the semisynthetic production of natural steroids. After WWII in the 1950s the synthetic steroid production had to be restarted again. Beside the invention of our original drugs (Depersolon® (API: mazipredone hydrochloride), Arduan® (USA: Arpilon®) (API: pipercuronium bromide)) many other so called reprogeneric drugs were synthesized at that time. In the 1960s the company's gynaecological portfolio was established and the first significant milestone was the Eastern-European registration of our contraceptive drug Infecundin in 1966

(API: norethynodrel and mestranol). The name „Infecundin” refers the contraceptive research work of Ludvig Haberlandt in the 1930s when an innovative cooperation started with him to produce the contraceptive drug composition Infecundin.

Beside gynaecology Gedeon Richter is involved in other therapeutic areas regarding both R&D activity and manufacturing of steroid API-s. Recently our original drug research is focused on the development of new central nervous system drugs and original gynaecologic research. The dedicated department for steroid innovation is the Steroid Synthetic Laboratory. The published articles and patents of this laboratory provided significant contributions to applied steroid organic chemistry during the past 50 years. In this present article the main achievements during the last one and the half decades are summarized.

Gedeon Richter has outstanding production plant facilities for steroidal APIs and for drug formulations using innovative technologies that enables us the preparation practically of any kind of steroid substance. Our company is world-wide known

producer of steroid APIs and drug formulations. Gedeon Richter plc. put an emphasis on strategic collaborations with other foreign companies aiming to produce innovative new drug products (e.g. norgestimate, norelgestromin, telapristone acetate). Since steroid products have long lifetime (we have an API in our pipeline, which has been produced for 45 years) the more stringent environmental, safety, quality and business needs require continuous revision and development of the applied technological and analytical processes. In case of APIs, intermediates and drug formulations it is essential and challenging task the identification and the synthesis of the typical (and critical) impurities and degradation products. Recently it has become strictly required to identify the carry over impurities as well. Surprisingly the synthesis of these chemical substances can be even more difficult than the original API's and can be a real challenge for us. As a demonstration of this activity a couple of representative examples from R&D projects are presented in the article.

One of our outstanding achievements in the field of original drug research was connected to the Company's CNS portfolio. During the HTS campaign of our compound collection several nitrogen containing steroid hits were identified with significant histamine H_3 receptor antagonist/inverse antagonist characteristics. On the basis of these molecules, as a result of a modern, Molecular Mechanism of Action (MMOA) based research a new steroid chemotype was discovered (scheme 1.) and the most promising derivative was selected as a preclinical candidate.

ESMYA® (API: ulipristal acetate, **1**), recently approved, original, first-in-class medicine is an orally active selective progesterone receptor modulator, which reversibly blocks progesterone receptors in the target tissues. For the synthesis of ulipristal acetate we developed several synthetic routes. The finally applied method was partly based on the synthesis of our another progesterone receptor modulator (telapristone acetate, scheme 9.). During the chemical development of the API and the intermediates we faced a strange analytical phenomenon. In case of those molecules which contain 4-dimethylaminophenyl group in position 11 an approximately 0.1% impurity was detected by HPLC method. It was proved to be an *N*-methyl deuterated isotopologue of the target molecule. This kind of phenomenon was never experienced among molecules with similar molecular weight.

Other successful generic API development was the synthesis of the progestin drospirenone (**14**, scheme 5.). In the synthesis, during the Corey-reaction step a previously unknown intermediate (**5**, scheme 4.) was identified, which helped us to understand the mechanism of the reaction. Our new synthesis became the first independent, patented industrial process of drospirenone following the originator.

For the synthesis of the anabolic steroid oxandrolone (**26**), a special process was elaborated, which enabled us to replace the dangerous and environmentally unfriendly oxidants like osmium tetroxide and ozone with the more favorable potassium permanganate (scheme 6.). As a further achievement our newly developed HPLC method was approved in the oxandrolone US Pharmacopoeia instead of the outdated TLC purity test.

Norgestimate (**37**) is the active pharmaceutical ingredient of Ortho-cyclen®, Ortho Tri-cyclen® (Ortho Pharmaceutical, Johnson and Johnson) pills, and norelgestromin (**38**) is the API of Ortho Evra® (Ortho Pharmaceutical, Johnson and Johnson) contraceptive patch. Both compounds are prodrug and an amorphous mixture of two oxime isomers. The real active ingredient is levonorgestrel in both cases, which is liberated by metabolism. The development of the chemical syntheses and the scaled up plant productions was carried out in close cooperation with the originator. The starting material levonorgestrel was produced by GR with totalsynthetic method (scheme 8.). For the preparation of high purity active ingredients, and the norelgestromin oxime isomers (they have different absorption properties) innovative methods/processes were worked out. In addition we were able to synthesize the E-isomer of norelgestromin (**39**) in high purity directly from levonorgestrel.

In case of pipecuronium bromide, in the last reaction step the methylbromide (ozone layer depleting chemical) reagent was eliminated (scheme 11.) and for environmental reasons several other changes were applied. Due to these modifications the impurity profile of the API was changed and effective syntheses for the new carry over impurities had been worked out such as 5 α -androst-1-en-17-one (**56**, scheme 13.).

On the basis of commercial considerations a new, innovative process was elaborated for the progestin norgestomet (veterinary medicine). The synthesis of this relatively „simple” structure proved to be a real challenge for us. For starting material (**43**) epoxide derivative was chosen, which was formerly applied at the preparation of progesterone receptor modulators API-s (scheme 14.)

Both in case API-s and drug compositions it is required to explore the formation of the decomposition products and the evaluation of their quality and exact quantity. It makes necessary their preparation in standard quality. For example during storage oxidative reactions take place in case of estradiol and estradiol containing drug compositions. A new degradation product was identified and its synthetic preparation helped us to understand the whole decomposition process (scheme 15.).