

© Коллектив авторов, 2015

И. А. Наркевич¹, И. Н. Тарасов², З. М. Голант¹, А. В. Алехин³

СОВРЕМЕННЫЕ ТЕХНОЛОГИИ СИНТЕЗА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИХ СУБСТАНЦИЙ: НА ПУТИ К ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОМУ ПРОИЗВОДСТВУ

¹ ГБОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия» Минздрава России, 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, 14, e-mail: igor.narkevich@pharminnotech.com

² MicroSpin MRT GmbH, Германия, 77709, Вольфах, Заарландштр. 21.

³ Минпромторг России, 109074, Москва, Китайгородский проезд, д. 7.

Внедрение новых технологий синтеза фармацевтических субстанций – интенсивного проточного микрореакторного синтеза АФС и асимметрического синтеза интермедиатов и активных фармацевтических субстанций (АФС) с использованием ферментов, созданных методами генетической инженерии – имеет важное значение для локализации производства АФС в России. Показаны возможности использования имеющихся в России научных заделов для быстрого внедрения в отечественное производство нового портфолио АФС с наименьшими операционными затратами, максимальной экономической эффективностью и конкурентоспособностью.

Ключевые слова: фармацевтика; активные фармацевтические субстанции; микрореакторный синтез АФС; асимметрический синтез интермедиатов и АФС; локализация производства АФС в России.

В нашей статье мы ставим своей целью привлечь внимание коллективов – разработчиков из ВУЗов, институтов РАН и научных центров, активно внедряющих передовые технологии и новые формы обучения и стремящихся к полной автоматизации производства, повышению его безопасности и энергоэффективности, снижению зависимости от поставщиков интермедиатов, большей степени локализации производства активных фармацевтических субстанций (АФС) при заметном снижении операционных затрат, к прорывным технологиям для отечественных производителей АФС и лекарственных препаратов.

Внедрение высокоэффективного локального производства востребованных на рынке АФС на основе собственных разработок/методик синтеза является системной задачей, и роль ВУЗов – с опережением организовывать подготовку молодых специалистов на собственной базе и планировать переподготовку производственных кадров для промышленных площадок.

В этом контексте развитие высокоэффективного локального производства АФС зависит от специалистов, хорошо понимающих ключевые аспекты разработки технологического процесса, начиная с установления возможности поставок и цены исходных товарных реагентов и заказных интермедиатов, определения динамики потребности в АФС, факторов стоимости химических или хемобиокаталитических преобразований и разделения их на факторы эффективности и воспроизводимости процесса, ускорения сроков их внедрения в производство с учетом обеспечения безо-

пасности реакции, контроля качества продукта, необходимости защиты интеллектуальной собственности, соблюдения требований регулятора и заканчивая способностью исполнения финального требования для локального производства АФС в России – снижения операционных затрат и повышения конкурентоспособности производства АФС.

В данном обзоре на примере анализа современных технологий эффективного синтеза АФС и их интермедиатов рассматриваются особенности внедрения в производство:

– интенсивного микрореакторного проточного (непрерывного) синтеза АФС и их интермедиатов;

– новых методик асимметрического синтеза интермедиатов и АФС с использованием ферментов, созданных методами генетической инженерии.

В настоящее время, когда АФС становятся все более и более сложными, и в фармацевтической промышленности идет непрерывный поиск высокоэффективных, более безопасных и экологичных альтернатив традиционной химии, быстро развиваются новые направления, одно из них – интенсивный микрореакторный проточный (непрерывный) синтез АФС и их интермедиатов, а другое – внедрение новых методик асимметрического синтеза, как химических, так и химико-ферментативных. Для последнего успешное внедрение промышленного биокатализа и его использование в химических трансформациях с целью получения трудно синтезируемых хиральных интермедиатов связано с развитием методов генетической инженерии

ферментов, обеспечивших появление ферментов нового поколения – высокоэффективных, стабильных и технологичных. В прошлом основанный на ферментах процесс разрабатывался с учетом ограничений фермента; в настоящее время ферменты разрабатываются таким образом, чтобы соответствовать спецификациям процесса.

Интенсивный проточный микрореакторный синтез АФС

Проточные микрореакторные технологии дают в руки производителей АФС очень ценные инструменты и подходы для интенсификации технологических процессов производства АФС и интермедиатов, позволяя использовать такие технологические преимущества, как гарантированная безопасность процесса, энергоэффективность, соответствие регуляторным нормам, модульность конструкции, возможность ее ускоренного масштабирования и воспроизводимость технологического процесса, компактность и высокая селективность. Сегодня все эти новые решения реализуются в промышленности, в первую очередь, на пилотном и полупромышленном, реже промышленном уровне в зависимости от выбранного портфолио АФС и ключевых интермедиатов, технологической подготовки площадки и профессиональной подготовки сотрудников.

Среди компаний, активно внедряющих микрореакторные технологии, стоит отметить компании Lonza, DSM, Sigma Aldrich, Bayer, AstraZeneca, Novartis, Eli Lilly, GlaxoSmithKline, Pfizer, MSD и исследовательские институты: IMM – Институт микротехники Майнц/Институт химической технологии (Германия), TNO – Правительственный институт прикладных исследований (Голландия), MIT – Массачусетский технологический институт (США).

За последние 3 года инновационные производственные площадки компаний Lonza (Швейцария, г. Висп) и DSM (Австрия, г. Линц) вышли на полупромышленный уровень производства АФС и промышленный выпуск интермедиатов.

Большинство из опубликованных исследований по использованию и внедрению данной технологии непрерывного синтеза относится к экспериментам на лабораторных или пилотных установках, выполненных в качестве демонстрации или оценки технической применимости микрореакторных технологических процессов для выполнения конкретных химических синтезов, из которых ниже приводим 2 примера синтеза АФС ибупрофена, который может быть использован для производства одного из самых востребованных лекарственных препаратов на отечественном фармацевтическом рынке.

Первый пример основополагающего 3-стадийного лабораторного синтеза из простейших билдинг-блоков с суммарным выходом 51 % и производительностью 9 мг/мин был опубликован авторами из Cornell University в 2009 г. [1], второй – в 2015 г. (MIT) [2], в нем представлены данные, полученные на полностью масштабируемой установке/технологии с производительностью лабораторной установки 135 мг/мин.

Во втором примере ибупрофен был синтезирован на базе простейших билдинг-блоков в полностью масштабируемом технологическом процессе с 3 стадиями синтеза, жидкость/жидкостном разделении при 200 psi, при суммарном нахождении реакционной смеси в микрореакторах (3 мин), со средним выходом 90 % на стадию с производительностью установки 8,09 (г/ч), процесс включает ацилирование по Фиделю – Крафтсу без растворителя, экзотермическое улавливание концентрированного $AlCl_3$ и непрерывную подачу насосами агрессивного окислителя ICl .

Текущие исследования и внедрение непрерывного синтеза и проточных микрореакторных технологий в производство имеют значительное влияние на то, как высокоэффективные процессы синтеза АФС будут проводиться в ближайшем будущем, в первую очередь это затронет гомогенный/гетерогенный катализ и асимметрический синтез, развитие и реализацию методов проведения реакций с высокой избирательностью. Тем не менее, внося изменения в технологию производства АФС, эти методы одновременно приводят к массовым изменениям в базовых принципах, которые, в свою очередь, требуют инвестиций в подготовку новых специалистов и предстоящее профессиональное переобучение сотрудников фармацевтических предприятий, в регламентирование и сертификацию, необходимые для создания устойчивых производственных платформ, которые приведут к полному освоению высокоэффективных средств производства АФС.

Развитие современных технологий интенсивного микрореакторного синтеза АФС, требующее смены парадигмы в разработке и производстве, ставит вопрос о переосмыслении требований и условий необходимого обучения новых производственных и исследовательских кадров с их привязкой к отечественной школе и современной методологии фундаментального органического синтеза и обеспечением тесного контакта с организациями-регуляторами и фармацевтическими производственными площадками.

Новые методики асимметрического синтеза интермедиатов и АФС с использованием ферментов, созданных методами генетической инженерии

Над разработкой новых химических или хемоферментативных методик асимметрического синтеза АФС и интермедиатов сегодня работает целый ряд крупных компаний [3]. В этой связи можно отметить одно из самых успешных системных решений компании Codexis, одного из лидеров, специализирующегося на промышленных разработках и внедрении данных технологий у ведущих мировых фармацевтических фирм. В последние годы научные сотрудники данной компании разработали набор процессов на основе кеторедуктаз (KRED) для производства хиральных интермедиатов для АФС: аторвастатина, монтелукаста, дулоксетина для АФС: аторвастатина, монтелукаста, дулоксетина, фенилэфрина, эзетимиба и кризотиниба. Эти процессы были главным образом основаны на мутантах фермента *L. kefir*, полученного посредством методов направленной эволюции [4]. Обзор в журнале

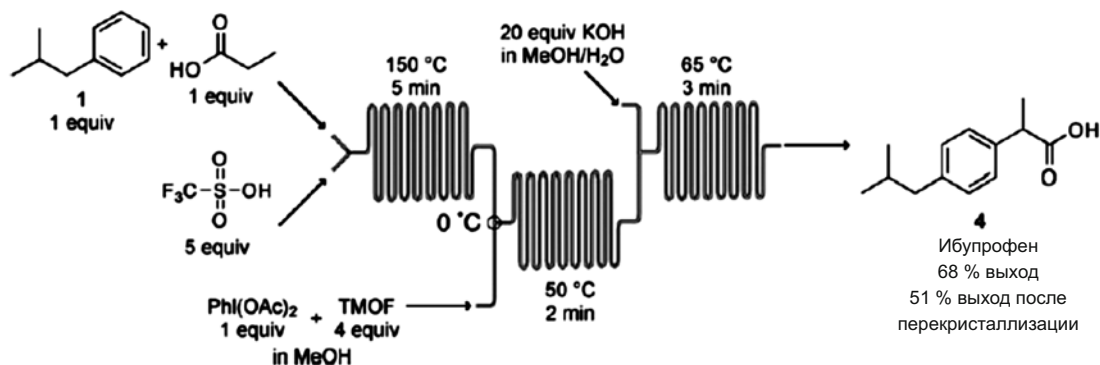


Рис. 1. Лабораторная установка микрореакторного синтеза АФС ибупрофена в 3 стадии с суммарным выходом 51 % и временем нахождения реакционной смеси в микрореакторе 10 мин [1].

Nature [5] максимально наглядно иллюстрирует возможности химико-ферментативного асимметрического синтеза хиральных интермедиатов АФС аторвастатина для лекарственного препарата “Липитор”, объем продаж которого по всему миру в 2014 г. составлял 2,479 млрд долларов США, и лекарственного препарата “Липримар” в России с объемом продаж 873 млн руб. в 2014 г.

Известно 7 разработанных подходов, отличающихся не только выбором фермента и начального субстрата, но также и тем, является ли продукт сырьем (с единственным хиральным центром) или усовершенствованным интермедиатом (с 2 хиральными центрами). Во всех случаях для успеха требуется белковая инженерия, чтобы улучшить скорость реакции, энантиоселективность, устойчивость к высоким концентрациям субстрата (до 3 моль/л, как в процессе с нитрилазой) или к высоким концентрациям растворителя (20 % бутилацетата в процессе с KRED) [6].

В этих биокаталитических процессах (рис. 3) используется комбинирование KRED с дегалогеназой галогидрина (HNDH – halohydrin dehalogenase) (маршрут I), нитрилазой (маршрут II) и альдолазой (маршрут III). Они различаются не только по классу фермента, но также и по выбору недорогого начального сырья, активности и селективности биокатализатора, технологии производства, выходу, чистоте конечного продукта. Маршруты I и II создают, асимметри-

ческий центр, но маршрут III создает оба хиральных центра, требуемые для современного фармацевтического интермедиата. Введение второго хирального центра после маршрутов I и II также выполняется с использованием KRED [5].

В маршруте I компании Codexis [6], приводящем к усовершенствованному интермедиату, используют 3 биокаталитических шага: первый – комбинирование KRED и GDH; второй – комбинирование этих ферментов с HNDH для получения интермедиата этил-(R)-4-циано-3-гидроксипутаноата. На второй стадии производительность процесса превысила 100 т в год; на третьей стадии осуществлено ферментативное восстановление для получения интермедиата – замещенного диола.

Эффективное решение компанией Codexis этой задачи потребовало тесного взаимодействия специалистов из разных областей. Следует отметить, что для подобных решений в России есть и надлежащий уровень компетенций, и организационные возможности, так как междисциплинарность часто становится не препятствием, а преимуществом как для ведущих ВУЗов, так и для научно-исследовательских институтов РАН и научных подразделений фирм. Одним из эффективных подходов можно считать координацию усилий лучших отечественных специалистов, работающих над задачей введения функциональных групп и более сложных заместителей в органическую моле-

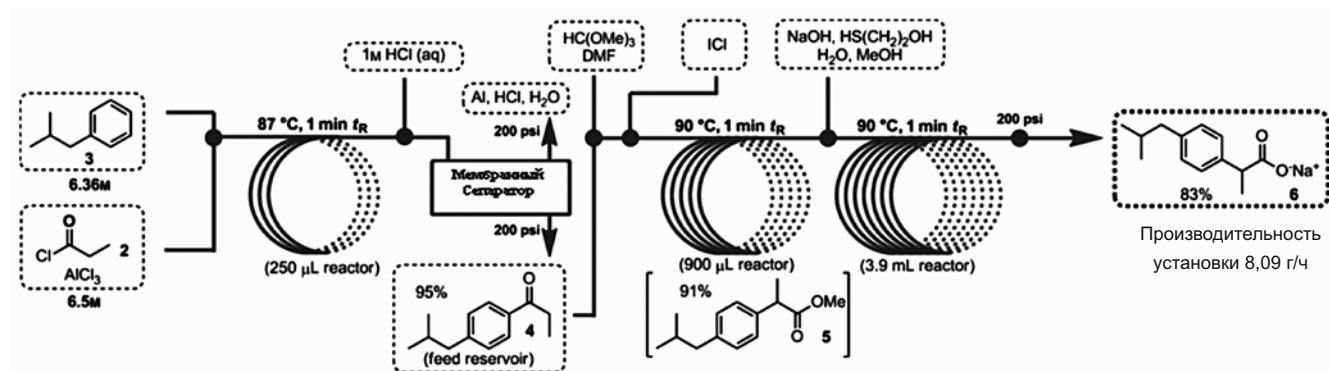


Рис. 2. Масштабируемая лабораторная установка микрореакторного синтеза АФС ибупрофена[2].

альной собственности внутри страны, позволят сделать важные шаги на пути перехода отечественной фармацевтической промышленности на инновационный путь развития. Освоение современных технологий синтеза фармацевтических субстанций решается во всем мире междисциплинарными коллективами, опирающимися на передовую научную базу и группы разработчиков промышленных технологий и специалистов внедренческих компаний. Именно в этом контексте использование отечественной фармацевтической промышленностью задела отечественной науки является необходимым условием, обеспечивающим ускоренное развитие отрасли и внедрение новых современных направлений и технологий, гарантирующих надежное и стабильное развитие фармацевтической промышленности в сегментах рынка с жесткой мировой конкуренцией.

Настоящая работа выполнена при финансовой поддержке Минобрнауки России в соответствии с Соглашением о предоставлении субсидии № 14.601.21.0006 от 14 мая 2015 года, проект RFMEFI60115X0006 по теме “Анализ состояния отечественного сектора исследований и разработок в области фармацевтики, проведение прогнозных исследований и выработка предложений по развитию научных исследований и образования для обеспечения разработки и внедрения технологий производства фармацевтических субстан-

ций, необходимых для локального производства лекарственных средств в Российской Федерации”.

ЛИТЕРАТУРА

1. A. R. Bogdan, S. L. Poe, D. C. Kubis, et al., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **48**, 8547 – 8550 (2009).
2. D. R. Snead and T. F. Jamison, *Angew. Chem.*, **127**, 997 – 1001 (2015).
3. H.-U. Blaser and H.-J. Federsel (eds.), *Asymmetric Catalysis on Industrial Scale: Challenges, Approaches and Solutions*, WILEY-VCH (2010).
4. G. W. Huisman, J. Liang, A. Krebber, *Cur. Opin. Chem. Biol.*, No. 14, 122 – 129 (2010).
5. U. T. Bornscheuer, G. W. Huisman, R. J. Kazlauskas, et al., *Nature*, No. 485, 185 – 194 (2012).
6. S. K. Ma, J. Gruber, C. Davis, et al., *Green Chem.*, **12**, 81 – 86 (2010).
7. В. П. Анаников, Л. Л. Хемчян, Ю. В. Иванова и др., *Ученые химии*, **83**(10), 885 – 985 (2014).
8. D. Suplatov, E. Kirilin, V. Takhaveev, et al., *J. Biomol. Struct. Dyn.*, **32**, 1752 – 1758 (2014).
9. D. Suplatov, V. Voevodin, V. Svedas, *Biotechnol. J.*, **10**, 344 – 355 (2015).
10. I. S. Kargov, S. Y. Kleimenov, S. S. Savin, et al., *Protein Engineering, Design Selection*, **28**(6), 171 – 178 (2015).
11. A. A. Alekseeva, A. A. Serenko, I. S. Kargov, et al., *Protein Engineering, Design Selection*, **25**(11), 781–788 (2012).
12. С. Д. Варфоломеев (ред.), *Физическая химия биопроцессов*, КРАСАНД, Москва (2014), сс. 221 – 302.

Поступила 16.11.15

MODERN TECHNOLOGIES FOR THE SYNTHESIS OF PHARMACEUTICAL SUBSTANCES: WAY TO HIGH-EFFICIENCY DRUG PRODUCTION

I. A. Narkevich^{1*}, I. N. Tarasov², Z. M. Golant¹, and A. V. Alekhin³

¹ St. Petersburg State Chemico-Pharmaceutical Academy, St. Petersburg, 197022 Russia

² MicroSpin MRT GmbH, 77709 Wolfach, Germany

³ Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation, Moscow, 109074 Russia

* e-mail: igor.narkevich@pharminnotech.com

Development and implementation of new technologies for the synthesis of pharmaceutical substances, including intense-flow microreactor synthesis and asymmetric synthesis of intermediates and active pharmaceutical substances (APSs) with the aid of enzymes created by methods of gene engineering, are topical issues for domestic production of APSs in Russia. Possibilities of using the available scientific basis for rapid implementation of new AFC portfolio at minimum production expenditures, maximum economic efficiency, and high competitiveness are considered.

Keywords: pharmacy, active pharmaceutical substances; intermediates; microreactor synthesis; asymmetric synthesis; drug production in Russia.