

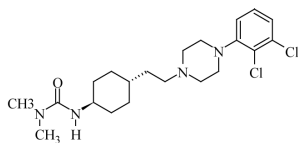
A kémia, ami a cariprazine-hoz vezetett

DOMÁNY György* és GREINER István

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

1. Bevezetés

2015. szeptember 17-én a magyar gyógyszeripar történetében eddig példa nélküli eredményt tudott felmutatni a Richter Nyrt. Az FDA forgalombahozatali engedélyt adott a VRAYLAR márkanevű, cariprazine hatóanyagot tartalmazó készítményre az USA területére mind skizofrénia, mind bipoláris mánia indikációban. Ez az első olyan FDA által elfogadott készítmény Közép-Kelet-Európában, melyet itt, még pontosabban Magyarországon találtak fel, hazánkban végeztek el, vagy innen irányították az összes szükséges preklinikai vizsgálatot, és a Richter Nyrt. önállóan végezte el az első fázis I. vizsgálatot is. Mindezeket túlmenően a további 46 klinikai vizsgálat megtervezésében, kivitelezésében és finanszírozásában is jelentős mértékben részt vett a hazai cég, sőt ezen túlmenően egy döntő jelentőségű fázis III. hatékonysági vizsgálatot tervezett meg és végzett el teljesen egyedül a Richter Nyrt. Érdemes kiemelni, hogy a törzskönyvezési folyamat közel három éven át a már korábban is rendkívül jó együttműködési készséget mutató amerikai partner folyamatosan kikerítette a Társaság véleményét, még a végső döntés előtt három órával is! Az alábbi fejezetek ennek az anyagnak a főbb kémiai kutatási eseményeit mutatják be.



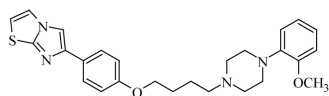
cariprazine

2. Előzmények

A cariprazine-hoz vezető kémiai úton több esetben kutatói intuíción túl a szerencsés véletlen is segítette munkánkat. Az első ezek közül a kémiai kiindulási pont azonosítása volt. A múlt század nyolcvanas-kilencvenes éveiben jelentős erővel kutattuk a vinpocetine-t (Cavinton) követő anyagokat. A biológiai vizsgálati rendszerben szerepelt egy teszt, amelyik az anyagok affinitását mérte a dopamin D_3 receptorhoz (megjegyzendő, hogy minden ismert antipszichotikum jelentős mértékben kötődik ehhez a fehérjéhez). Az előállított anyagok néhány ezreléke hatást mutatott ebben a vizsgálatban, majd részletes biológiai jellemzésükkor kiderült, hogy affinitásuk a dopamin D_3 receptorhoz még erősebb. Ezek szerkezetét célszerűen módosítva *in vivo* is aktív, potenciális antipszichotikumokat nyertünk, amelyek jellegzetes képviselője az RGH-1756 jelű anyag volt.¹

Humán receptorokon a dopamin D_3 szelektivitás még kifejezettebbnek mutatkozott. Az anyag elfogadható biológiai

hasznosulást mutatott patkányban, és aktív volt az apomorfín-indukálta mászási viselkedés tesztben. Ez utóbbi eredmény ugyan nem közvetlen előrejelzője az antipszichotikus



RGH-1756

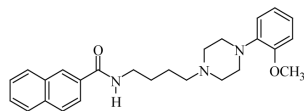
rD_3-K_i : 2.4 nM; rD_2-K_i : 15.8 nM

hatásnak emberben, de a részletes, célirányos vizsgálatok elvégzését mindenképpen indokolja. Mindazonáltal az RGH-1756 a patkány $\alpha-1$ adrenoreceptorhoz mutatott jelentős affinitása, ami potenciális kardiovaszkuláris mellékhatásokra utal, valamint a később kiderülő, megengedettnél magasabb toxicitása miatt preklinikai fejlesztésre nem volt alkalmas.

Amikor azonban 1999 decemberében Társaságunknál egy új projekt indult szelektív dopamin D_3 receptor antagonisták kutatására, amelynek célja a kokain függőség kezelésére alkalmas szer kifejlesztése volt, az RGH-1756 kimagasló dopamin D_3 receptor affinitása és szelektivitása miatt igen alkalmas kémiai kiindulási pontként szolgált.

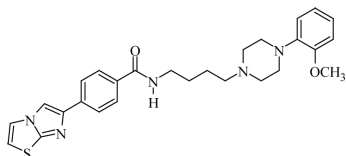
3. A projekt indulása

A vezérmolekula létrehozásához az RGH-1756 "spacer" részében levő éter oxigénjét az irodalomból ismert rokon szerkezetű szelektív dopamin D_3 ligandum BP-897-ben² fellelhető karboxamid csoportra cseréltük. Így jutottunk az 1 jelű anyaghoz, amelynek már több mint nyolcszázszoros volt a D_3 szelektivitása.



BP-897

rD_3-IC_{50} : 0.6 nM; rD_2-IC_{50} : 115 nM; α_1-IC_{50} : 30 nM

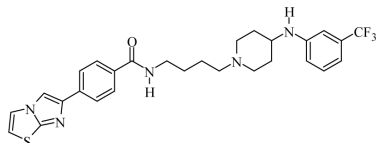


1

rD_3-IC_{50} : 0.13 nM; rD_2-IC_{50} : 108 nM; α_1-IC_{50} : 4.3 nM

* e-mail: gy.domany@richter.hu

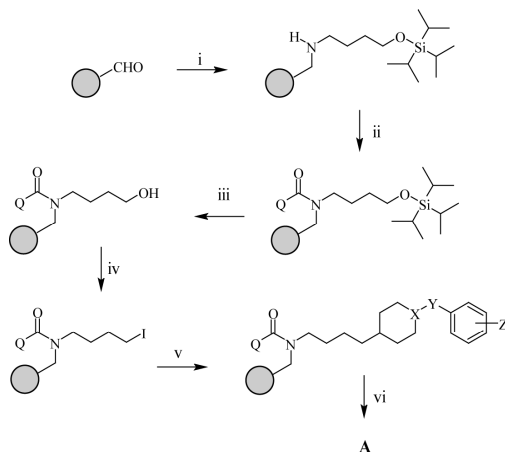
Következő lépésként a kardiovaszkuláris mellékhatásokért feltételezhetően felelős α_1 adrenoreceptor affinitást a 2-metoxifenil csoport alkalmas helyettesítésével terveztük kiküszöbölni. A 2-metoxifenil piperazint 3-trifluorometil-fenilamino-piperidinre cserélve jutottunk a **2** jelű anyaghoz, amely a részletesebb jellemzés végére alkalmas vezérmolekulának bizonyult.

**2**

rD_3 -IC₅₀: 1.0 nM; rD_2 -IC₅₀: 584 nM; $r\alpha_1$ -IC₅₀: 2829 nM

4. A vezérmolekulától a 4 jelű szulfonamidig

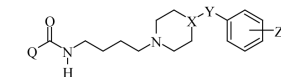
A vezérmolekula szerkezetéből kiindulva több száz **A** általános képlettel jellemezhető származékot állítottunk elő, és vizsgáltunk meg a releváns *in vitro* tesztekben.



i: "primer amin"/NaBH(OAc)₂/AcOH; ii: "sav"/HBTU/TEA; iii: Bu₄NF;
iv: I₂/Ph₃P/imidazol; v: "szekunder amin", DIPEA; vi: TFA/DCM.

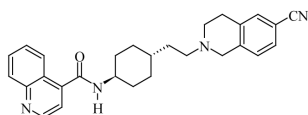
1. Ábra. Az **A** általános képletű molekulár szilárdfázisú előállításának sémája.

Előállítottunk egy másik ismert dopamin D₃ receptor antagonistát (SB-277011)² is, néhány általunk megtervezett származékával együtt, hogy további hatékony, szelektív és immár jól felszívódó vezérmolekulákat azonosíthassunk. Választásunk a patkányban igen jó biológiai hasznosulást mutató (rBA: 80.4%) **3** jelű anyagra esett.

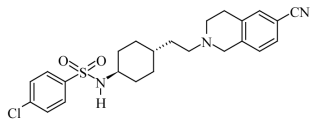
**A**

ahol Q aromás karbo- vagy heterociklus, X jelentése N vagy CH, Y jelentése egyes kötés, O, NH vagy CH₂ volt, míg Z egy vagy több alkil, alkoxi, nitril csoportot, halogén atomot, illetve egyéb helyettesítőt jelezhet a fenil gyűrű bármely szénatomján.

Ezek a származékok részben hagyományos folyadék fázisú szintézissel, részben automatizált szilárd fázisú párhuzamos szintézissel készültek a kombinatorikus kémia elvei szerint (a szilárdfázisú szintézis sémája az 1. ábrán látható). Közöttük több szelektív és nagy affinitású dopamin D₃ ligandumot találtunk, de a hatékony vegyületek nagy része elfogadhatatlanul alacsony biológiai hasznosulást mutató patkányban (rBA < 20%).

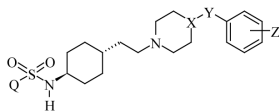
**SB-277011**

rD_3 -IC₅₀: 6.4 nM, rBA: 63%



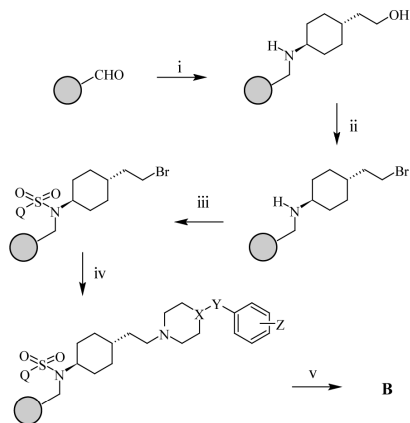
3
rD₃-IC₅₀: 3.4 nM, rBA: 80.4%

Ebből a szerkezetből kiindulva egy következő (**B** általános képlettel jellemezhető) molekulatípus állítottunk elő, ismét részben oldatfázisú, részben automatizált szilárdfázisú párhuzamos szintézissel.



B
ahol Q, X, Y és Z ugyanazokat az atomokat illetve csoportokat jelentik, mint az A jelű molekulatárban.

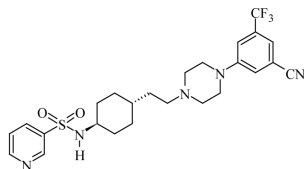
Az automatizált szilárdfázisú szintézisre egy még rövidebb reakcióutat fejlesztettünk ki (2. ábra).



- i: *trans*-4-aminociklohexiletanol/NaBH(OAc)₂/CH₂Cl₂/AcOH;
ii: PPh₃/Br₂/imidazol/CH₂Cl₂; iii: QSO₂Cl/TEA/THF;
iv: "gyűrűs szekunder amin"/KI/DMF; v: TFA/CH₂Cl₂.

2. Ábra. A **B** általános képletű molekulatár szilárdfázisú előállításának sémája.

Az **A** és **B** molekulatárak több száz tagjából a **4** jelű, a dopamin D₃ receptorhoz nagy affinitást mutató, a D₂ és az α₁ receptorok vonatkozásában egyaránt szelektív anyagot választottunk ki részletes farmakológiai vizsgálatokra.⁴

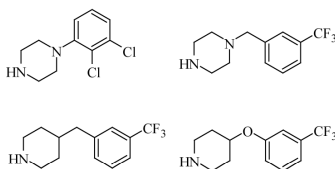


4
rD₃-IC₅₀: 0.6 nM; rD₂-IC₅₀: 83 nM; rα₁-IC₅₀: 7804 nM;

5. A második projekt

Másfél évvel a projekt indulása után több szempont figyelembevételével az a döntés született, hogy a kutatást egy új antipszichotikum kifejlesztésének irányába folytassuk. Kémiai kiindulási pontként a **4** jelű anyag kiválóan megfelelt, mert jó biológiai hasznosulást mutatott és aktív volt az apomorfinnal indukált mászási viselkedés teszten (rBA: 54%; „apomorphine-climbing”- ED₅₀: 22 mg/kg). A részletes farmakológiai és biztonságossági vizsgálatok azonban kimutatták, hogy **4** patkányban indukálja a CYP1A enzimet, valamint QT intervallum nyújtó hatással bír, és így preklinikai fejlesztésre alkalmatlan.

Számos analóg vegyület vizsgálata után arra a következtetésre jutottunk, hogy a CYP1A enzim indukáló hatás kapcsolatban van a molekula fenilpiperazin részének helyettesítőivel, különösképpen a nitril csoporttal, és ennek eliminálásával megszabadulhatunk ettől a mellékhatástól. A kardiovaszkuláris mellékhatásokkal fenyegető QT intervallum nyújtást ellensúlyozandó pedig az antipszichotikum hatást kívántuk fokozni részben a dopamin D₂ affinitás fokozásával, részben az anyagok farmakokinetikai jellemzőinek megváltoztatásával, elsősorban az agy/plazma koncentráció arány növelésével. Az ekkor már jelentős mennyiségű szerkezeti és hatásadatot tartalmazó adatbázisunkat tanulmányozva négy olyan szerkezeti elemet (building block) azonosítottunk, amelyek alkalmasnak látszottak a kitért cél elérésére (3. ábra).

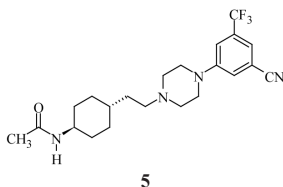


3. Ábra. Nagy D₃ és D₂ receptor affinitást várhatóan CYP indukció nélkül biztosító építőelemek.

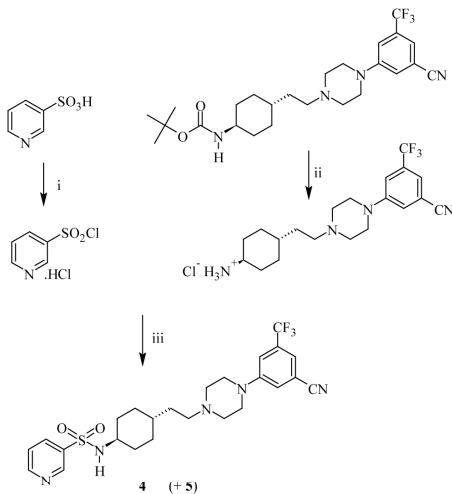
6. Az új vezérmolekula és optimalizálása

Ekkor azonban történt valami, amely gyökeresen megváltoztatta vezérmolekula optimalizálásunk irányát. A **4** jelű anyag részletes farmakológiai vizsgálataihoz az anyagot több alkalommal és nagyobb mennyiségben

is elő kellett állítani. Ezen szintézisek során feltűnt egy makacs szennyeződés, amelynek kiküszöbölése céljából elkülönítettük azt, és ami az ezt követő szerkezetmeghatározás során az **5** jelű anyagnak bizonyult.



Az 5 jelű anyag keletkezése a 4 előállítása során nem nyilvánvaló. Legvalószínűbbnek az tűnik, hogy a védőcsoport eltávolításhoz használt sósavas etil-acetátban jelenlévő ecetsav, amely a primer amin hidrokloridot szennyezi, vegyes anhidridet képez a reagensként használt piridin-3-szulfonsav kloridral és verseng azzal a primer amin acilezésében (4. ábra).

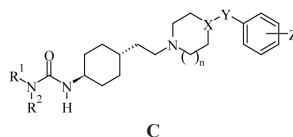


i: PCl_5 ; ii: HCl/EtOAc ; iii: $\text{TEA}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$

4. Ábra. A 4 jelű anyag szintézise.

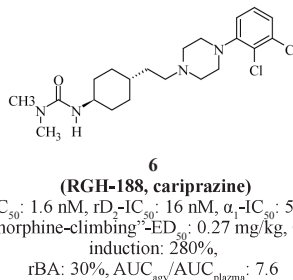
Az 5 jelű szennyezés nagy affinitású, szelektív és in vivo kimagaslóan hatékony anyagának bizonyult (rD₅₀: 1,9 nM; rD₂-IC₅₀: 143 nM; rα₁-IC₅₀: >10,000 nM; „apomorphine-climbing”-ED₅₀: 1.54 mg/kg), bár 4-hez hasonlóan jelentős mértékben indukálta CYP1A enzimet. Ez a szerencsés véletlen meghívta rávilágított arra, hogy ahhoz hogy hatékony és gyógyszereszerű anyagokat nyerjünk nem szükséges a molekulák bal felére nagy térkitöltésű, lipofil csoportokat tennünk, ahogy azt korábban az irodalom és saját korábbi tapasztalataink alapján gondoltuk, hanem éppen ellenkezőleg, a kis és kevésbé lipofil részek kifejezettebben alkalmazhatók.

Az 5. jelű új vezérmolekula optimalizálásának legfőbb célja a CYP indukció és az esetleg felmerülő QT intervallum megnyúlás kiküszöbölése volt. Ezért a C általános képlettel jellemezhető vegyülettár előállítását tűztük ki célul.



ahol X, Y és Z ugyanazokat az atomokat illetve csoportokat jelentik, mint az A jelű molekulatárban (bár az anyagok zömmel a 3. ábrán látható gyűrűs szekunder aminok felhasználásával készültek), n lehet egy vagy kettő, R₁ és R₂ pedig H, alkilcsoport (esetleg együtt területi heterociklus)

Ez volt immár a harmadik előállított molekulátár a projektek során, és tagjai között több, minden korábban előállítottátnál hatékonyabb és gyógyszerre fejlesztésre alkalmas anyagot azonosítottunk. A részletes farmakológiai jellemzés eredményeként a **6** jelű anyagot választottuk ki RGH-188 néven preklinikai, majd ezen vizsgálatok sikeres befejezése után klinikai vizsgálatokra.^{5,6}



7. Zárszó

Richter Nyrt. kutatás-fejlesztési tevékenységében mindig fontos szerepet játszottak azok a tapasztalatok, melyek a korábbi szakmai munka során keletkeztek. Ezekre építve sikerült több új hatóanyagot kifejleszteni, azonban egyik sem tudott a cariprazine-hoz hasonló sikert felmutatni, amihez annak idején jó intuíciókkal és némi szerencsével eljutottunk. Habár a vegyület már 2002-ben a kezünkben volt a kémiai kutatás igazi eredménye csak 2015-ben, 13 évvel később vált nyilvánvalóvá. Ez a tény mindennél jobban mutatja, hogy az új vegyületek kémiai kutatásával foglalkozó szakembereknek a kudarctüro képesség, a nagy munkabírási és a szakmai kiválósiág mellett rendkívüli türelemmel is kell rendelkezniük. Bizunk abban, hogy számosan közülük megélhetnek még hasonló sikereket, és átérthetik azt az örömet, amit munkatársaink és mi, mert a gyógyszerkutatásban ez a legtöbb, amit el lehet érni.

Köszönetnyilvánítás

A szerzők itt szeretnék kifejezni köszönetüket annak a több száz embernek, akik Richter Gedeon Nyrt. alkalmazottaiként a cariprazine sikeréért dolgoztak és dolgoznak, külön kiemelve a kémiaiért felelős munkatársaikat.

Hivatkozások

1. Laszlovsky, I., Ács, T., Kiss, B., Domány, Gy. *Pharmazie*, **2001**, *56*, 287-289.
2. Pilla, M., Perachon, S., Sautel, F., Garrido, F., Mann, A., Wermuth, C.G., Schwartz, J.-C., Everitt, B.J., Sokoloff, P. *Nature*, **1999**, *400*, 371-375.
3. Stemp, G., Ashmeade, T., Branch, C. L., Hadley, M.S., Hunter, A.J., Johnson, C.N., Nash, D.J., Thewlis, K.M., Vong, A.K.K., Austin, N.E., Jeffrey, P., Avenell, K.Y., Boyfield, I., Hagan, J.J., Middlemiss, D.N., Reavill, C., Riley, G.R., Routledge, C. and Wood, M. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 1878-1885.
4. Ágai-Csongor, É., Nógrádi, K., Galambos, J., Vágó, I., Bielik, A., Magdó, I., Ignác-Szendrei, Gy., Keszérű, Gy. M., Greiner, I., Laszlovsky, I., Schmidt, E., Kiss, B., Sággy, K., Laszy, J., Gyertyán, I., Zájer-Balázs, M., Gémesi, L., Domány, Gy. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2007**, *17*, 5340-5344.
5. Ágai-Csongor, É., Galambos, J., Nógrádi, K., Vágó, I., Sággy, K., Kiss, B., Laszlovsky, I., Laszy, J., Gyertyán, I. *WO2005/012266 A1*. **2005**.
6. Ágai-Csongor, É., Domány, Gy., Nógrádi, K., Galambos, J., Vágó, I., Keszérű, Gy.M., Greiner, I., Laszlovsky, I., Gere, A., Schmidt, É., Kiss, B., Vastag, M., Tihanyi, K., Sággy, K., Laszy, J., Gyertyán, I., Zájer-Balázs, M., Gémesi, L., Kapás, M., Szombathelyi, Zs. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **2012**, *22*, 3437-3440.

The chemistry that lead to cariprazine

On 17 September 2015 the U.S. Food and Drug Administration approved Vraylar (cariprazine) capsules to treat schizophrenia and bipolar disorder in adults. This novel atypical antipsychotic drug had been invented by the research division of Gedeon Richer Plc. and developed together with its american partner Forest Laboratories (at present Allergan Plc.).

This remarkable success story started in the nineties of the last century, when the search for new anti-dementia drugs unintentionally resulted in a few new 4-arylpiperazine derivatives that showed high affinity to the dopamine D₂ receptors. Since all the antipsychotics on the market at that time were functional antagonists of this receptor a new project was started to explore the potential of this compound family. After this lucky observation, a systematic modification of the structure of the best analogues lead to RGH-1756, a compound with acceptable affinity to the dopamine D₂ receptors and with especially high affinity to the dopamine D₃ receptors. However, because of cardiovascular side effects and low therapeutic index the preclinical development of this compound unfortunately could not be started. Nevertheless, when a new project aiming at the development of selective dopamine D₃ antagonists for the treatment of cocaine abuse was initiated in 1999, RGH-1756 was selected as a chemical starting point. After a few chemical modifications – partly influenced by the structure of **BP-897** – that improved the dopamine D₃ receptor selectivity versus dopamine D₂ and adrenaline α -1 receptors compound **2** was obtained and served as lead during the optimization procedure.

Hundreds of new compounds with the general formula **A** were prepared partly by traditional solution phase synthesis and partly by automated solid phase parallel synthesis utilizing the principles of combinatorial chemistry. Unfortunately, most of these compounds showed low bioavailability. Based on the structure of another selective dopamine D₃ ligand, **SB-277011**, several hundred new compounds with the general formula **B** was prepared and tested. Out of this series compound **4** was identified as a promising selective dopamine D₃ functional antagonist with good bioavailability.

By that time, however, the focus of the research of the company has been changed, and instead of drug abuse the possible symptomatic treatment of psychosis became our target. Since compound **4** showed good in vivo activity as a functional dopamine D₂ antagonist its preclinical development had been seriously considered. However, its CYP1A enzyme inducing and QT prolonging activity obstructed its preclinical development. By the time a medicinal chemical strategy were established for the elimination of these disadvantageous properties an unexpected observation occurred. A tenacious impurity of compound **4** (compound **5**) was isolated, synthesised and tested. It turned out that it has generally similar biological effects as its parent compound (**4**), but it was almost 10 times more active in vivo. This new compound became the new lead, the optimization of which resulted in a new series of urea derivatives with the general formula **C**. During this optimization we succeeded in the elimination of CYP enzyme induction and QT prolongation and identified compound **6** as the most promising derivative. It was selected for preclinical and later for clinical development as RGH-188.