

primjena znanstvenih rezultata u proizvodnji

Kemija u tvrtki Galapagos istraživački centar d. o. o.

KUI – 29/2011
Prispjelo 6. listopada 2011.
Prihvaćeno 4. studenog 2011.

V. Gabelica Marković,* M. Mesić, S. Alihodžić i K. Kovačević

Galapagos istraživački centar d. o. o.,
Prilaz baruna Filipovića 29, 10 000 Zagreb

Tvrtka *Galapagos istraživački centar d. o. o.* privatna je znanstvena organizacija, aktivna u područjima kemije, biologije, biomedicine, veterine i farmacije. Za potrebe ovog članka posvećenog Međunarodnoj godini kemije, obuhvaćen je pregled područja kojim se bave kemičari u ovom istraživačkom centru, a iznesene su i tehnike i tehnologije koje se primjenjuju u provedbi istraživačko-razvojnih projekata.

Aktivnosti kemičara usmjerene su na sintezu novih organskih spojeva, potencijalnih novih lijekova, na njihovu identifikaciju i strukturnu karakterizaciju, na procese pročišćavanja, uvećanja sinteze (*scale up*), na primijenjenu analitiku u biološkim materijalima (DMPK – metabolizam lijekova i farmakokinetika) te na farmaceutski razvoj prekliničkih kandidata.

Projektni timovi u Galapagosu obuhvaćaju istraživače svih relevantnih struka za istraživanje potencijalnih novih lijekova, kao što su kemičari (kemijski inženjeri i tehnolozi), biolozi, medicinari, veterinari, farmaceuti. Konačni cilj svakog od projekata je djelotvoran, dobro definiran preklinički kandidat, koji se dalje razvija u suradnji s drugim dijelovima *Galapagosa* (Belgija, Francuska, Velika Britanija) ili u partnerstvu s velikim farmaceutskim kompanijama.

U članku su područja istraživanja i tehnologije potkrijepljeni konkretnim primjerima i rezultatima objavljenim u člancima.

Ključne riječi: *Galapagos istraživački centar Zagreb, medicinska kemija, istraživanje novih lijekova, fizikalno-kemijska karakterizacija, uvećanje procesa*

Uvod i kratka povijest Centra

Galapagos istraživački centar u Zagrebu posebno je ponosan što u godini kemije može ispričati dio svoje priče o kemiji i interdisciplinarnom pristupu istraživanju novih lijekova u kojima su osnova medicinska kemija te sintetska organska kemija.

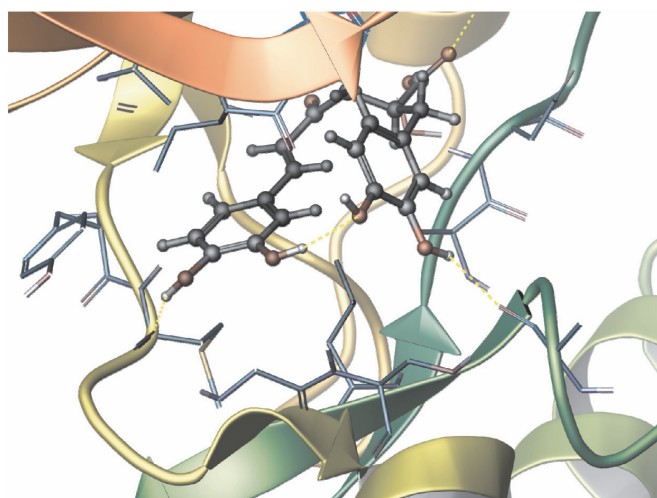
Istraživanjima u Galapagos istraživačkom centru Zagreb prethodi bogata povijest Plive i njezina Istraživačkog instituta, koji je iznjedrio prvi hrvatski originalan lijek, antibiotik azitromicin (o tome vidi poseban članak u ovom broju KUI-a). S obzirom na makrocikličku strukturu antibiotika azitromicina, na izvrsna farmakokinetička svojstva ove klase spojeva te na usvojeno znanje istraživača, to je područje bilo dominantno i u godinama koje su slijedile.

Uz makrolidnu kemiju, s vremenom je sve više novih projekata uključivalo sintezu i biološko ispitivanje različitih klasa heterocikličkih spojeva. U to vrijeme jača suradnja na području antiinfektiva između Istraživačkog instituta Plive i tvrtke GlaxoSmithKline iz Velike Britanije. Među ostalim projektima na kojima se radilo nakon 2005. bili su i projekti iz područja protuupalnih lijekova kao i područja lijekova za središnji živčani sustav. Snažan portfelj aktivnih molekula koje su bile potencijalni kandidati za lijekove, kao i niz kvalitetnih međunarodno priznatih patenata koji su podupirali intelektualno vlasništvo iz ovog područja, bili su predmet interesa tvrtke GlaxoSmithKline. Pliva je, restrukturirajući svoje poslovanje strateškim zaokretom prema generičkim lijekovima, tada odlučila prodati svoj inovativni dio Istraživačkog instituta toj svjetski poznatoj farmaceutskoj tvrtki. Nakon nekoliko godina djelovanja kao GSK istraživački centar Zagreb (2006. – 2010.), promjenom vlasnika već godinu dana isti istraživački centar djeluje kao Galapagos istraživački centar d. o. o.

* Autor za dopisivanje: dr. sc. Vesna Gabelica Marković,
e-pošta: Vesna.GabelicaMarkovic@glpg.com

Istraživanje novih lijekova u Galapagos istraživačkom centru

Istraživanje novih lijekova u Galapagos istraživačkom centru Zagreb kompleksan je proces kojim je organska kemija ključna disciplina. Danas, za razliku od prije nekoliko desetljeća, kada je istraživanje lijekova bilo uglavnom vođeno kemijskim pretvorbama i sintezama novih kemijskih molekula koje su zatim testirane *in vitro* u biološkim sustavima, a zatim i u uvjetima *in vivo*, istraživanja započinju prepoznavanjem biološke mete. Biološka meta je protein ili nukleinska kiselina čija se funkcija može modificirati farmakološki aktivnim tvarima – lijekovima. Za odabir biološke mete vrlo je važno poznavanje patologije bolesti za koju se



Slika 1 – Ružmarinska kiselina u ATP-veznom mjestu ljudske Fyn-kinaze

Fig. 1 – Rosmarinic acid in the ATP-binding site of humane Fyn kinase

istražuje lijek kao i moguće sudjelovanje tog proteina, enzima ili receptora u drugim za život važnim procesima. Prepoznavanje i validacija pojedinih bioloških meta uključuje stručnjake znanstvenike iz različitih područja kao što su genetičari, molekularni biolozi, stanični biolozi, medicinari, ali i kristalografi i modelari molekula (računski kemičari). Validirane biološke mete početak su modernog pristupa u istraživanju novih lijekova. Tako je u Galapagosu većini bioloških meta na kojima se radi (uglavnom se radi o proteinima koji su regulatori različitih procesa u organizmu) određena kristalna struktura. Jedan od primjera upotrebe mete za dizajniranje lijekova na strukturnim osnovama je i istraživanje vezanja malih molekula na ATP-vezno mjesto ljudske Fyn-kinaze¹ (slika 1).

Na mnogim projektima kod kojih se radila optimizacija novog lijeka primijenjena je paralelna sinteza kao brži i učinkovitiji način u sintezi novih molekula. U ovoj je sintezi vrlo važno optimizirati uvjete reakcije i imati učinkovitu analitičku podršku.

Velik broj sintetskih reakcija koje se u konvencionalnim uvjetima grijanja provode kroz nekoliko sati ili čak dana, u mikrovalnim reaktorima završava za nekoliko minuta do najviše jednog sata. Robotizirani sustav koji svaku zadanu reakciju provodi kod unaprijed definiranih uvjeta u stanju je provesti i do stotinu reakcija dnevno, što u mnogome pomaže istraživačima Galapagos istraživačkog centra da povećaju produktivnost i skrate vrijeme potrebno za dobivanje novih molekula.

Kemija je sve vrijeme prisutna kroz cijeli proces od pronalaska prvih probiranih molekula, koje pokazuju relativno slabu aktivnost prema biološkoj meti, pa do sinteze i ispitivanja predkliničkih kandidata. Taj dio istraživanja (razvoj lijeka), uključuje sintezu u uvećanom mjerilu, kao i detaljnu analizu fizikalnih svojstava molekule, primjerice polimorfizam, te razvoj farmaceutskog oblika za primjenu budućeg lijeka, što je shematski prikazano na slici 2.

Kemija u istraživanju i razvoju lijeka

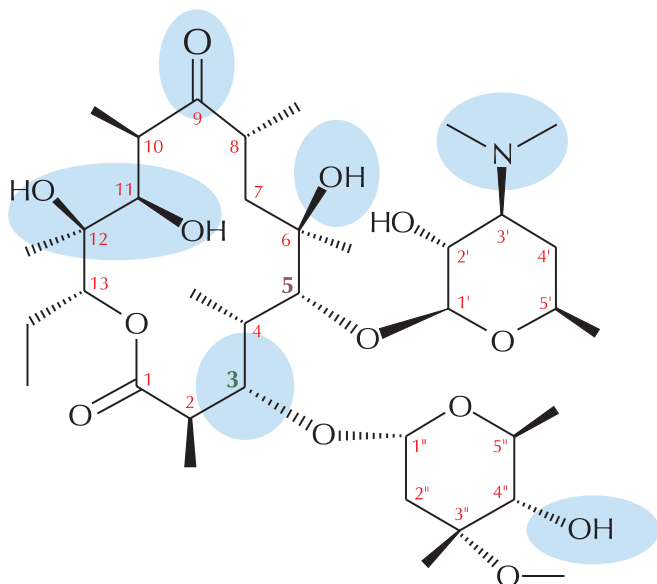


Slika 2 – Kemija u procesu istraživanja i razvoja novih lijekova

Fig. 2 – Chemistry in drug discovery and development

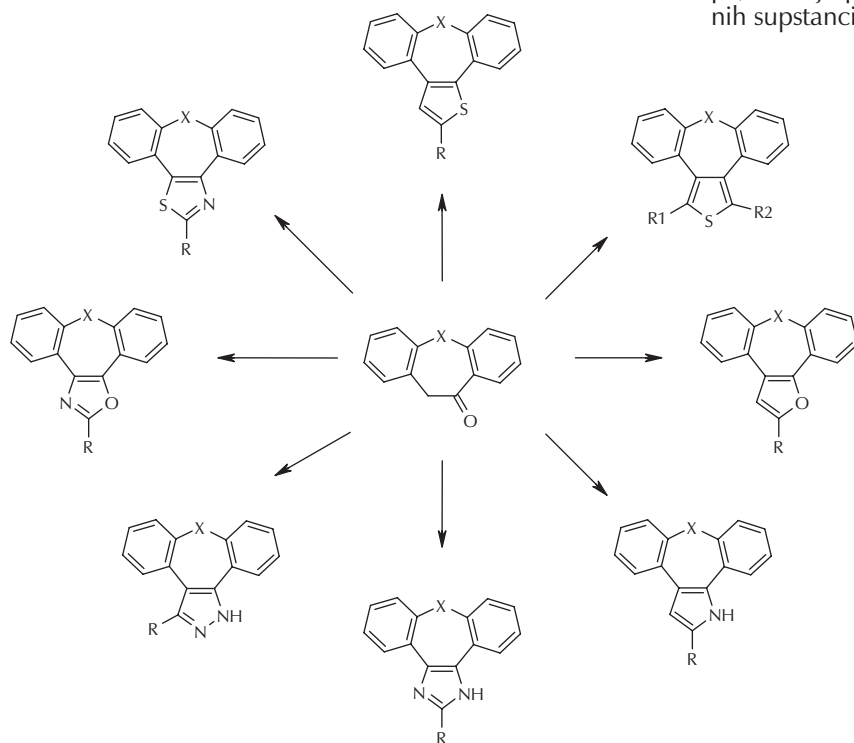
Brojni su konkretni primjeri istraživanja provedenih po ranije navedenim načelima uspješno završeni i objavljeni. U području makrolida radi se u prvom redu o istraživanjima antibakterijskih^{2–10} i antimalarijskih spojeva¹¹ (slika 3).

U području istraživanja različitih heterocikličkih sustava objavljeni su brojni radovi u području konjugiranih azulena i imidazola s antiinflamatornim djelovanjem^{11–12} (slika 4) te pirimidinona s biološkim svojstvima.¹⁴



Slika 3 – Opća struktura eritromicinskih derivata. Plavo su istaknuti položaji na kojima su radene modifikacije.

Fig. 3 – General structure of macrolide, erythromycin derivatives. Positions of the modifications are shaped in blue colour.



Slika 4 – Primjeri raznolikih modifikacija benzoazulenskog prstena

Fig. 4 – Various modifications of the benzoazulene ring

Fizikalno-kemijska i analitička karakterizacija novih spojeva

Kemijske reakcije se u Galapagos istraživačkom centru prate brzom tekućinskom kromatografijom ultravisoke djelotvornosti spregnute sa spektrometrom masa (UPLC-MS). Tri sustava UPLC-MS su otvorenog pristupa, što znači da svaki sintetičar ima mogućnost da sam analizira svoje uzorke. Ovakav način rada omogućava da se tijekom kemijske reakcije prati količina nastalog produkta kao i njegova molekulska masa, što značajno ubrzava istraživački proces (slika 5).

U najnovije vrijeme visokoučinkovitu tekućinsku kromatografiju (HPLC) zamjenjuje UPLC, što se uočava i u analitičkim laboratorijima Galapagos istraživačkog centra. Jedan od primjera uspješne analize uzorka s onečišćenjima je jedan derivat makrolida¹⁵ (slika 6). Tijekom sinteze konačnog produkta, potencijalnog protuupalnog lijeka, pojavila su se tri onečišćenja, iste mase, koja je bilo teško identificirati i odvojiti na HPLC-koloni. Primjenom UPLC-kolone tri su onečišćenja odvojena, što je omogućilo kvantifikaciju svakog od njih, a spektrometrijom masa potvrđena pretpostavljena izomerizacija. Velika prednost tehnike UPLC je u smanjenoj potrošnji otapala, što je ne samo financijska ušteda već i ekološki pozitivan korak.

U laboratorijima Galapagosa nalazi se niz kromatografskih sustava koji su povezani bilo s UV-detektorom s nizom fotodioda (DAD) bilo sa spektrometrima masa različitih mogućnosti. Svi sustavi LC-DAD-MS imaju svoju ulogu, od provjere čistoće, strukturne karakterizacije do određivanja točne molekulske mase. Pročišćavanje reakcijskih smjesa odvija se na preparativnom sustavu HPLC-MS. Iako je ovo prilično skup sustav, pokazao se kao vrlo učinkovito oruđe za rad. Ovaj sustav je postavljen na način otvorenog pristupa, čime je povećana produktivnost, odnosno broj izoliranih supstancija u jednom danu.

Za potvrdu strukture u Galapagos istraživačkom centru nalaze se četiri NMR-instrumenta (300, 400, 500 i 600 MHz). Svi NMR-instrumenti su automatizirani i postavljeni su na način otvorenog pristupa. Ovaj način rada koji je uveden 2007. godine podržava sintezu velikog broja molekula u kratkom vremenu, dobivanje brzog odgovora, te povećava iskoristivost svakog instrumenta. Za praćenje sinteza tijekom dana na jednom NMR-uređaju provode se samo brza protonska mjerenja, dok se na ostalima provode spektroskopije ¹³C, COSY, HSQC, HMBC. Ovi eksperimenti provode se kada je potrebna detaljna strukturna karakterizacija ili za male količine uzoraka, što je prilično često. NMR-spektroskopija nezaobilazna je analitička tehnika za strukturnu karakterizaciju makrolidnih derivata. Za strukturnu karakterizaciju jednog makrolida potreban je NMR-instrument pri višem magnetnom polju, niz dvodimenzijskih spektara te dobro oko iskusnog analitičara. NMR je ključan dio u procesu istraživanja lijeka, što se vidi i u nizu publikacija u kojima NMR zauzima posebno mjesto.^{16–21}



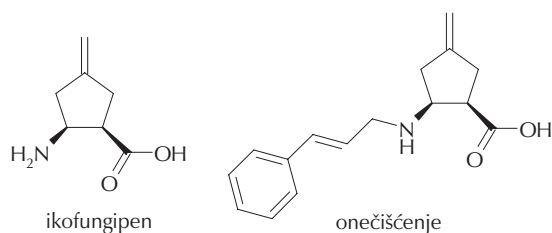
Slika 5 – Otvoreni pristup na uređaju UPLC-MS u Galapagos analitičkom laboratoriju

Fig. 5 – Open access UPLC-MS in Galapagos analytical laboratory

Uloga analitičkog kemičara je da svojom ekspertizom potvrđuje strukture, rješava složenije strukture, određuje enantiomernu čistoću, određuje količinu i vrstu onečišćenja ili razgradnih produkata. Visoki kriteriji za čistoćom supstancija osobito su važni za biološka testiranja. Onečišćenja se analiziraju spregnutim tehnikama, LC-MS-DAD i LC-NMR, čime se olakšava bilo resinteza bilo izolacija.^{22–23}

Jedan od objavljenih primjera je identifikacija onečišćenja u sintezi ikofungipena (slika 7), potencijalnog antigljivičnog lijeka.²⁴ Spregnutim tehnikama, LC-MS i LC-NMR okarakterizirano je onečišćenje koje je kasnije potvrđeno resintezaom.

Stabilnost potencijalno aktivne molekule važna je kako za rok trajanja lijeka, kada jednom dođe na tržište, tako i za



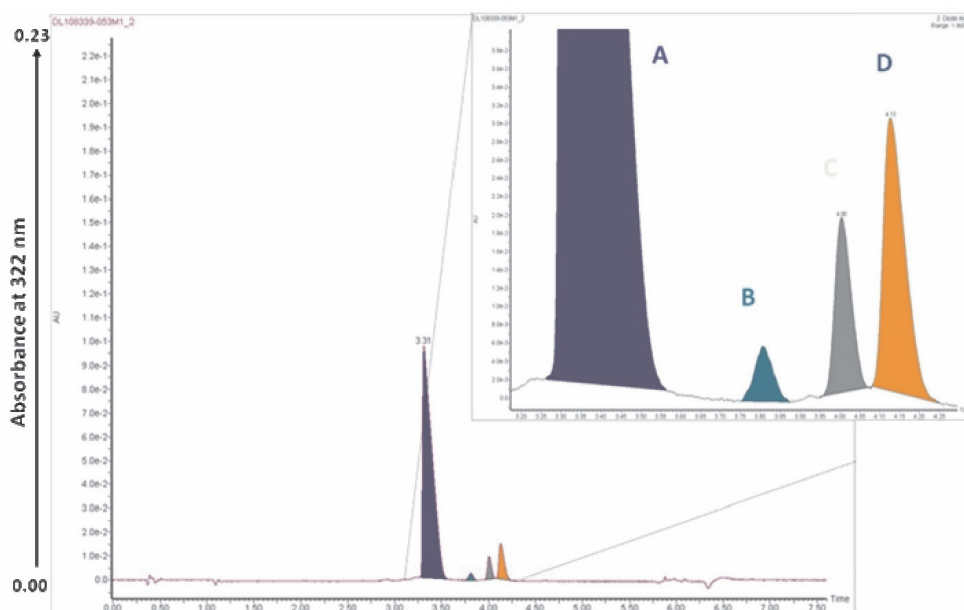
Slika 7 – Ikofungipen i izolirano onečišćenje

Fig. 7 – Icofungipen and isolated impurity

stabilnost molekule tijekom puta od ulaska molekule u organizam do terapijske mete. Stoga je određivanje stabilnosti u različitim otapalima, pH-vrijednostima i biološkim medijima sastavni dio Galapagos analitičkog laboratorija.²⁵

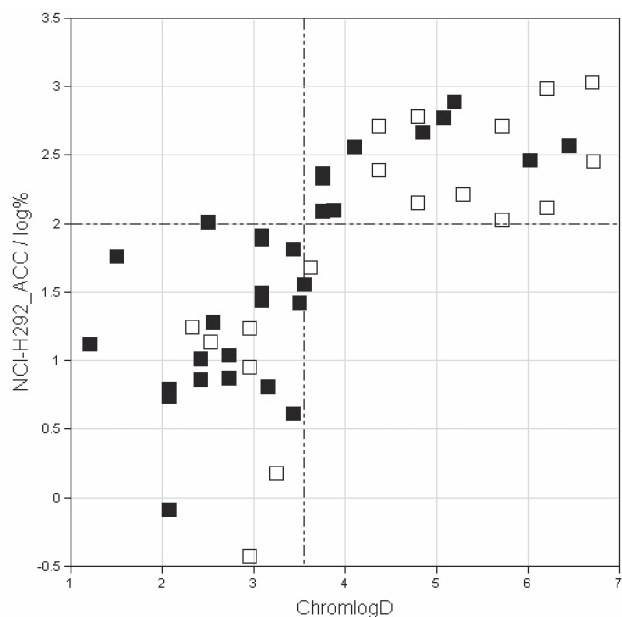
Potencijalno aktivna supstancija mora imati i dobra fizikalno-kemijska svojstva kao što su lipofilnost, permeabilnost, ionizacijska konstanta i topljivost. Ta svojstva izravno utječu na apsorpciju, distribuciju i eliminaciju lijeka. Stoga se kao sastavni dio tijekom optimizacije molekula određuju fizikalno-kemijska svojstva, bilo računski bilo eksperimentalno. Fizikalno-kemijska svojstva makrolidnih molekula prilično je nepouzdana računati komercijalno dostupnim programima i modelima, te su stoga modelari molekula razvili model za predviđanje farmakokinetičkih svojstava na temelju skupa eksperimentalno određenih fizikalno-kemijskih 14- i 15-eročanih makrolida²⁶ (slika 8).

Specifičnost makrolidnih molekula bit će prikazana u još jednom radu (bit će objavljen 2011. godine) u kojem su uspoređena fizikalno-kemijska svojstva 600 makrolidnih molekula s 50 000 malih, nemakrolidnih molekula.²⁷ Autori zaključuju da, usprkos značajnoj razlici u veličini molekula te njihovoj razgranatosti, optimalna fizikalno-kemijska svojstva, koja bi male molekule trebale posjedovati da bi postale lijek na tržištu, vrijede i za makrolidne spojeve.



Slika 6 – Separacija onečišćenja metodom UPLC

Fig. 6 – Separation of impurities by UPLC method



Slika 8 – Prvi model za stanično nakupljanje makrolida na temelju kromatografski određenih lipofilnih parametara

Fig. 8 – First model of macrolide accumulation in cells, based on lipophilic parameters determined by chromatography

Rano uvećanje u istraživanju novih lijekova

U procesu istraživanja novih lijekova koja se provode u Galapagos istraživačkom centru u Zagrebu pravovremeno osiguravanje intermedijara u količinama potrebnim za optimiranje farmakokinetičkih, farmakodinamskih i fizikalno-kemijskih svojstva, odnosno za prelazak u daljnju fazu istraživanja, prepoznata je kao važan dio ukupnog procesa. Nadalje, optimirane spojeve je potrebno detaljno profilirati kako *in vitro* tako i *in vivo*, te su u tu svrhu potrebne višegradske količine konačnog spoja, obično preko 100 g. Budući da potrebni intermedijari uglavnom nisu komercijalno dostupni, medicinski kemičari su ranije trošili znatan dio vremena za njihovu ponovnu sintezu. Tijekom optimiranja vodeće molekule proizvode se miligramske količine velikog broja konačnih spojeva, potrebe za intermedijarima u gramskim količinama su česte. Da bi se povećala učinkovitost istraživačkih procesa i osigurala pravovremena sinteza potencijalnih kandidata, osnovan je Laboratorij za rano uvećanje.

Laboratorij je opremljen s tri reaktora: volumena 2 litre te 5 i 10 litara i autoklavom za hidriranje od 4 litre. Takva oprema omogućava sinteze konačnih spojeva u količinama većim od 100 grama, što je dovoljno i za rane toksikološke studije.

Tijekom istraživanja osnovni je cilj medicinskog kemičara sintetizirati spoj koji pokazuje potrebnu učinkovitost. Pri tome se manje obraća pažnje na put i reakcijske uvjete sinteze kojim se spoj dobiva. Takvi postupci uglavnom se ne mogu primijeniti prilikom uvećanja. Jedan od osnovnih razloga zašto je teško primijeniti takve reakcijske putove je taj što na većoj skali sve traje znatno dulje, te je reakcijski put potrebno optimirati. Kad se govori o optimiranju, najčešće se misli na optimiranje reakcije s ciljem povećanja



Slika 9 – Dio opreme u Laboratoriju za uvećanje

Fig. 9 – Part of the Scale up laboratory

prinosu produkta i smanjenja neželjenih nusprodukata, te samim time izbjegavanja čišćenja produkta na kolonama silikagela, skraćivanje reakcije, optimalnu primjenu energije tako da se pronađu uvjeti pri kojima se izbjegavaju ekstremno visoke ili niske temperature, smanjenje količine otpadnih kemikalija i slično. Prema tome dobro optimirana reakcija je imperativ za uspješno uvećanje.

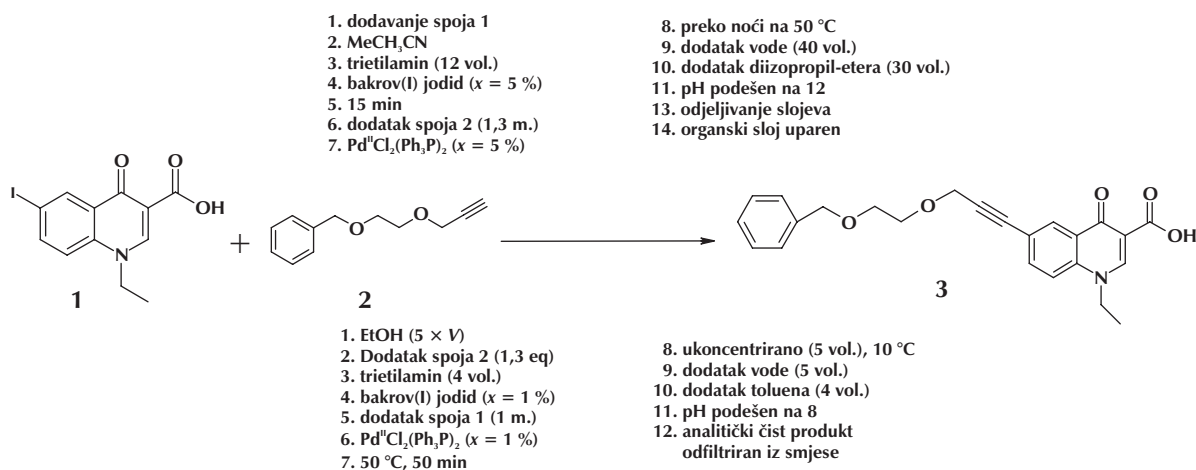
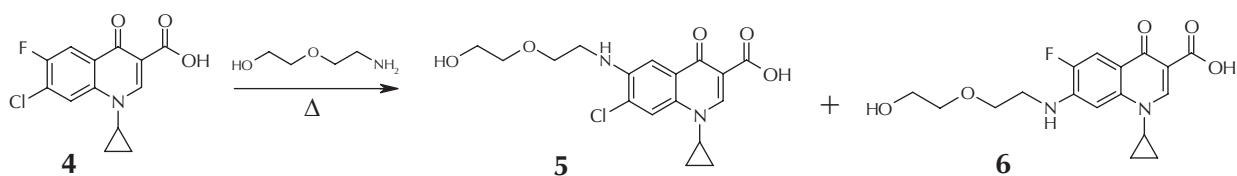
Jedan od primjera uspješnog optimiranja sintetskog puta te sinteza krajnjeg produkta u zadovoljavajućoj količini i čistoći, provedena u našem laboratoriju, objavljen iste godine, a kao primjer ističemo optimiranje stupnja Sonogashirove reakcije.²⁸ U sintetskom putu od petnaest stupnjeva, ukupno iskorištenje povećano je s 5 – 8 % koje je dobivano u laboratoriju na 27 % u Laboratoriju za uvećanje. Na slici 10 prikazani su uvjeti optimizacije jednog od petnaest sintetskih koraka.

Još jedan primjer uspješne optimizacije sintetskog puta proveden u našem laboratoriju objavljen je u 2010.²⁹ Za razliku od prethodnog primjera, gdje se optimizacijom reakcijskih uvjeta i načina izolacije došlo do postupka pogodnog za uvećanje, u sljedećem primjeru trebalo je pronaći potpuno nov put sinteze.

U reakciji 6-fluor-7-klorokinolonske kiseline (**4**) sa suviškom aminoetoksietanola dobivena je smjesa produkata **5** i **6** u omjeru 1:1. Svi su pokušaji optimizacije reakcije aminolize radi povećanja udjela željenog kloriranog derivata (**5**) bili bezuspješni. Iako se očekivalo da je moguće provesti regio-selektivnu aminolizu fluora u prisutnosti manje reaktivnog klora, elektronski efekti drugih dviju prisutnih skupina na jezgri benzena uzrokuju promjenu reaktivnosti ova dva atoma halogena, te se uvijek dobije smjesa fluor- i klor-β-hidroksi-alkohola, slika 11.

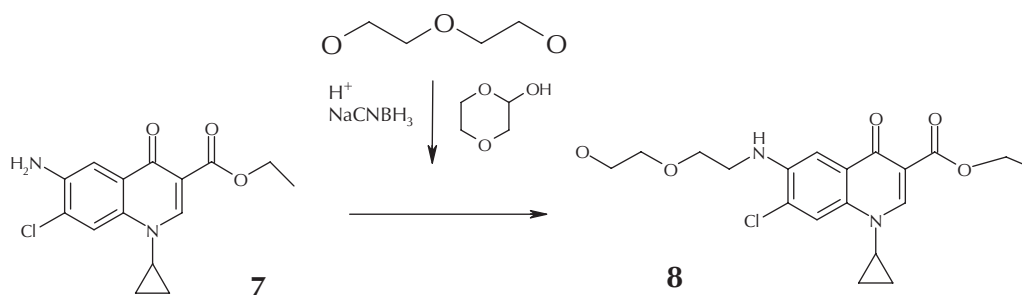
Zbog toga se pristupilo iznalaženju potpuno novog sintetskog puta za pripremu željenog, klor-β-hidroksi-alkohola (**5**), postupkom reduktivnog aminiranja.

Selektivnom oksidacijom dietilenglikola s Ru(VIII), koji se dobije reakcijom *in situ* rutenijeva(III) klorida i natrijeva perodata u prisutnosti katalitičke količine vode, nastaje

Slika 10 – Optimiranje uvjeta Sonogashirove reakcije²⁸Fig. 10 – Optimisation of Sonogashira reaction conditions²⁸

Slika 11 – Priprava β-hidroksi-alkohola

Fig. 11 – Preparation of β-hydroxy alcohol

Slika 12 – Oksidacija dietilenglikola u acetal 2-hidroksi-1,4-dioksana te njegova primjena za reduktivno alkiliranje aminokinolona (7)²⁹Fig. 12 – Oxidation of diethylenglycole to 2-hydroxy-1,4-dioxane acetal and its use for reductive alkylation of aminochinolons (7)²⁹

monoaldehid etilenglikola u formi 2-hidroksi-1,4-dioksana. Takav acetal iskorišten je za reduktivno alkiliranje aminokinolona (7) pri čemu nastaje željeni produkt 8 u viskom iskorištenju i visoke čistoće, te je uspješno iskorišten za uvećanje, (slika 12). Spoj 8 se hidrolitičkim putem dalje prevede u ključni intermedijer 5.

Uspješno otkriće potentnog spoja tijekom procesa istraživanja lijekova nastavlja se dugotrajnim i skupim procesom razvoja lijeka. Značajan dio razvojnog procesa odnosi se na pronalaženje i karakterizaciju optimalne kristalne strukture pogodne za razvoj. Naime, dobro je poznato da ista tvar u različitim kristalnim strukturama (polimorfi) može posjedovati različita fizikalna, kemijska i farmakološka svojstva, kao što su termodinamička i spektroskopska svojstva, morfologija kristala, topljivost, razgradnja, stabilnost, bioraspodjeljivost, toksičnost itd.

Budući da se preko 80 % lijekova na tržištu nalazi u obliku čvrstih pripravaka (tablete, kapsule, prahovi i sl.), poznavanje fizikalno-kemijskih svojstava pojedinog kristalnog oblika i razumijevanje mogućih transformacija postalo je bitan dio u razvoju novog lijeka, te je kao takvo prisutno i u našim istraživanjima.³⁰

Zaključak

U tvrtki Galapagos istraživački centar d. o. o. provode se intenzivna istraživanja novih lijekova. Jedno od područja istraživanja su bili makrolidi s antibakterijskim i antiinflamatornim djelovanjem, a u posljednje vrijeme sve su intenzivnija istraživanja malih heterocikličkih molekula s protuupalnim djelovanjem te spojeva s djelovanjem na središnji živčani sustav i kardiovaskularne bolesti i stanja.

Tijekom cijelog procesa dobivanja potencijalno aktivnih molekula primjenjuju se znanja iz različitih kemijskih područja, od sintetske kemije za pripremu spojeva, fizikalne i analitičke kemije za karakterizaciju uzoraka, medicinske kemije koja na temelju bioloških informacija dizajnira molekule radi medicinske primjene za liječenje bolesti, računalne kemije koja omogućuje dizajniranje molekula na strukturnim osnovama, do analitičkog pregleda (*screening*) *in silico* velikih biblioteka molekula. U tu svrhu primjenjuju se suvremene metode i tehnologije, kao što je paralelna sinteza, molekulska modeliranje, moderne metode separacije (LC-MS) te različite tehnike za identifikaciju i konformacijsku analizu novih molekula (NMR).

Moderan Laboratorij za uvećanje (*scale up*) služi za pripremu većih količina novih supstancija, u kojem su instalirani upravljani reaktori volumena 2, 5 i 10 L te autoklav za hidriranje od 4 L. Istraživači iz Galapagosa, kemičari i znanstvenici drugih specijalnosti publiciraju velik broj znanstvenih radova u najprestižnijim znanstvenim časopisima, a neki od tih radova citirani su i u ovom članku.

Popis kratica

DMPK	– farmakokinetika i metabolizam lijekova – drug metabolism and pharmacokinetics
ATP	– adenzin trifosfat – adenosine triphosphate
UPLC	– visokoučinkovita tekućinska kromatografija – ultra performance liquid chromatography
UPLC-MS	– visokoučinkovita tekućinska kromatografija – spektrometrija masa – ultra performance liquid chromatography – mass spectrometry
DAD	– detektor s nizom fotodioda – diode array detector
LC-DAD-MS	– tekućinska kromatografija – detektor s nizom fotodioda – spektrometrija masa – liquid chromatography – diode array detector – mass spectrometry
NMR	– nuklearna magnetska rezonancija – nuclear magnetic resonance
COSY	– korelacijska spektroskopija – correlation spectroscopy
HSQC	– heteronuklearna korelacijska spektroskopija NMR koja se koristi koherencijom od jednog kvanta – heteronuclear single quantum correlation
HMBC	– heteronuklearna korelacijska spektroskopija NMR koja se koristi koherencijom kroz više veza – heteronuclear multiple bond correlation

Literatura:

References:

- D. Jelić, B. Mildner, S. Koštrun, K. Nujić, D. Verbanac, O. Čulić, R. Antolović, W. Brandt, Homology Modeling of Human Fyn Kinase Structure: Discovery of Rosmarinic Acid as a New Fyn Kinase Inhibitor and *in Silico* Study of Its Possible Binding Modes, *J. Med. Chem.* **50** (2007) 1090–1100.
- A. Fajdetić, G. Kobrehel, G. Lazarevski, Z. Marušić-Ištuk, S., Synthesis and Structural Properties of Novel Tricyclic 15-membered Azalides, *Croat. Chem. Acta* **82** (2009) 715–723.
- M. Bukvić Krajačić, P. Novak, M. Dumić, M. Cindrić, H. Čipčić Paljetak, N. Kujundžić, Novel ureas and thioureas of 15-membered azalides with antibacterial activity against key respiratory pathogens, *Eur. J. Med. Chem.* **44** (2009) 3459–3470.
- A. Hutinec, M. Đerek, G. Lazarevski, V. Šunjić, H. Čipčić Paljetak, S. Alihodžić, V. Eraković Haber, M. Dumić, N. Maršić, S. Mutak, Novel 8a-aza-8a-homoerythromycin-4th-(3-substituted-amino)propionates with broad spectrum antibacterial activity, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **20** (2010) 3244–3249.
- A. Fajdetić, H. Čipčić Paljetak, G. Lazarevski, A. Hutinec, S. Alihodžić, M. Đerek, V. Štimac, D. Andreotti, V. Šunjić, J. M. Berge, S. Mutak, M. Dumić, S. Lociuo, D. J. Holmes, N. Maršić, V. Eraković Haber, R. Spaventi, 4th-O-(ω-Quinolylamino-alkylamino)propionyl derivatives of selected macrolides with the activity against the key erythromycin resistant respiratory pathogens, *Bioorg. Med. Chem.* **18** (2010) 6559–6568.
- I. Palej Jakopović, G. Kragol, A. K. Forrest, C. S. V. Frydrych, V. Štimac, S. Kapić, M. Matanović Škugor, M. Ilijaš, H. Čipčić Paljetak, D. Jelić, D. J. Holmes, D. M. B. Hickey, D. Verbanac, V. Eraković Haber, S. Synthesis and properties of macrolones characterized by two ether bonds in the linker, *Bioorg. Med. Chem.* **18** (2010) 6578–6588.
- M. Matanović Škugor, V. Štimac, I. Palej, Đ. Lugarić, H. Čipčić Paljetak, D. Filić, M. Modrić, I. Đilović, D. Gembarovski, S. Mutak, V. Eraković Haber, D. J. Holmes, Z. Ivezić-Schoenfeld, S. Alihodžić, Synthesis and biological activity of 4th-O-acyl derivatives of 14- and 15-membered macrolides linked to ω-quinolone-carboxylic unit, *Bioorg. Med. Chem.* **18** (2010) 6547–6558.
- M. Bukvić Krajačić, M. Perić, K. S. Smith, Z. Ivezić Schoenfeld, D. Žihor, A. Fajdetić, N. Kujundžić, W. Schoenfeld, G. Landek, J. Padovan, D. Jelić, A. Ager, W. K. Millhous, W. Ellis, R. Spaventi, C. Ohrt, Synthesis, Structure-Activity Relationship, and Antimalarial Activity of Ureas and Thioureas of 15-Membered Azalides, *J. Med. Chem.* **54** (2011) 3595–3605.
- A. Fajdetić, A. Vinter, H. Čipčić Paljetak, J. Padovan, I. Palej Jakopović, S. Kapić, S. Alihodžić, D. Filić, M. Modrić, N. Košutić-Hulita, R. Antolović, Z. Ivezić Schoenfeld, S. Mutak, V. Eraković Haber, R. Spaventi, Synthesis, activity and pharmacokinetics of novel antibacterial 15-membered ring Macrolones, *Eur. J. of Med. Chem.* **46** (2011) 3388–3397.
- A. Hutinec, R. Rupčić, D. Žihor, K. S. Smith, W. Millhous, W. Ellis, C. Ohrt, Z. Ivezić Schoenfeld, An automated, polymer-assisted strategy for the preparation of urea and thiourea derivatives of 15-membered, azalides as potential antimalarial chemotherapeutics, *Bioorg. Med. Chem.* **19** (2011) 1692–1701.
- I. Ozimec Landek, D. Pešić, P. Novak, B. Stanić, K. Nujić, M. Merćep, M. Mesić, 2,8-Dithia-dibenzo[e, h]azulenes and their 8-oxa analogs. Synthesis and anti-inflammatory activity, *Heterocycles* **78** (2009) 2489–2507.
- I. Ozimec Landek, D. Pešić, R. Trojko, M. Devčić Bogdanović, M. Merćep, M. Mesić, Synthesis of Naphto[2,3-b]- and Naphto[1,2-b]-fused Thieno[2,3-d][1]benzoxepins and Thieno[2,3-d][1]benzothiepins, *Heterocycles* **81** (2010) 2269–2290.
- R. Rupčić, M. Modrić, A. Hutinec, A. Čikoš, B. Stanić, M. Mesić, D. Pešić, M. Merćep, Novel Tetracyclic Imidazole Derivatives: Synthesis, Dynamic NMR Study, and Anti-Inflammatory Evaluation, *J. Heterocycl. Chem.* **47** (2010) 640–656.
- D. Jelić, K. Nujić, V. Stepanić, K. Kovačević, D. Verbanac, 6-Imino-2-thioxo-pyrimidinones as a new class of dipeptidyl peptidase IV inhibitors, *Med. Chem. Res.* **20** (2011) 339–345.
- M. Ilijaš, D. Gembarovski, I. Palej, V. Gabelica Marković, S. Alihodžić, Identification of Macrolide Isomers by Improving Sensitivity through Increasing Chromatographic Performances: Comparison of UPLC/UV/MS to HPLC/UV/MS, u N. Šegudović (ur.), 14th International Symposium on Separation

- Science, *New Achievements in Chromatography* (Primošten, 2008), Book of abstract, HDKI, Zagreb, 2008, str. 61.
16. R. Rupčić, M. Modrić, A. Hutinec, A. Čikoš, B. Stanić, M. Mesić, D. Pešić, M. Merćep, Novel Tetracyclic Imidazole Derivatives: Synthesis, Dynamic NMR Study, and Anti-Inflammatory Evaluation, *J. Heterocycl. Chem.* **47** (2010) 640–656.
 17. I. Palej Jakopović, G. Kragol, A. K. Forrest, C. S. V. Frydrych, V. Štimac, S. Kapić, M. Matanović Škugor, M. Ilijaš, H. Čipčić Paljetak, D. Jelić, D. J. Holmes, D. M. B. Hickey, D. Verbanac, V. Eraković Haber, S. Alihodžić, Synthesis and properties of macrolones characterized by two ether bonds in the linker, *Bioorg. Med. Chem.* **18** (2010) 6578–6588.
 18. M. Bukvić Krajačić, M. Dumić, P. Novak, M. Cindrić, S. Koštrun, A. Fajdetic, S. Alihodžić, K. Brajša, N. Kujundžić, Discovery of Novel Ureas and Thioureas of 3-Decladinosyl-3-hydroxy 15-Membered Azalides Active Against Efflux Resistant *Streptococcus Pneumoniae*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **21** (2011) 853–856.
 19. M. Bukvić Krajačić, M. Perić, K. S. Smith, Z. Ivezić Schoenfeld, D. Žiher, A. Fajdetic, N. Kujundžić, W. Schoenfeld, G. Landek, J. Padovan, D. Jelić, A. Ager, W. K. Milhous, W. Ellis, R. Spaventi, C. Ohrt, Synthesis, Structure Activity Relationship, and Antimalarial Activity of Ureas and Thioureas of 15-Membered Azalides, *J. Med. Chem.* **54** (2011) 3595–3605.
 20. P. Novak, I. Tatić, J. Jill, Systematic approach to understanding macrolide-ribosome interactions: NMR and modeling studies of oleandomycin and its derivatives, *J. Phys. Chem. A* **110** (2006) 580–588.
 21. P. Novak, Z. Banić Tomišić, J. Plavec, G. Turkalj, Conformational analysis of oleandomycin and its 8-methylene–9-oxime derivative by NMR and molecular modelling, *Org. Biomol. Chem.* **3** (2005) 39–47.
 22. P. Novak, M. Cindrić, P. Tepeš, S. Dragojević, M. Ilijaš, K. Mihaljević, Identification of impurities in carbosie by using an integrated liquid chromatography-nuclear magnetic resonance and liquid chromatography-mass spectrometry approach, *J. Sep. Science* **28** (2005) 1442–1447.
 23. P. Novak, P. Tepeš, I. Fistrić, J. Bratoš, V. Gabelica, The application of LC-NMR and LC-MS for the separation and rapid structure elucidation of an unknown impurity in 5-aminosalicylic acid, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **40** (2006) 1268–1272.
 24. P. Novak, P. Tepeš, M. Ilijaš, I. Fistrić, I. Bratoš, A. Avdagić, Z. Hameršak, V. Gabelica Marković, M. Dumić, LC-NMR and LC-MS identification of an impurity in a novel antifungal drug icofungipen, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **50** (2009) 68–72.
 25. S. Dragojević, V. Šunjić, V. Bencetić-Mihaljević, J. Ralić, M. Mesić, I. Jivkov Elenkov, A. Filipović Sučić, A. Čempuh Klonkay, L. Lerman, M. Ilijaš, V. Gabelica-Marković, I. Malnar, Determination of aqueous stability and degradation products of series of coumarin dimers, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **54** (2011) 37–47.
 26. V. Stepanić, S. Koštrun, I. Malnar, M. Hlevnjak, K. Butković. I. Čaleta, M. Dukši, G. Kragol, O. Makaruha-Stegić, L. Mikac, J. Ralić, I. Tatić, B. Tavčar, K. Valko, S. Zulfikari, V. Munić, Modeling Cellular Pharmacokinetics of 14- and 15-Membered Macrolides with Physicochemical Properties, *J. Med. Chem.* **54** (2011) 719–733.
 27. V. Stepanić, D. Žiher V. Gabelica-Marković, D. Jelić, S. Nunhuck, K. Valko, S. Koštrun, Physicochemical profile of macrolides and their comparison with small molecules, *Eur. J. Med. Chem.* (2011) (in process of publication)
 28. V. Štimac, M. Matanović Škugor, I. Palej Jakopović, A. Vinter, M. Ilijaš, S. Alihodžić, S. Mutak, Initial Scale-Up and Process Improvements for the Preparation of a Lead Antibacterial Macrolone Compound, *Org. Process Res. Dev.* **14** (2010) 1393–1401.
 29. A. Vinter, A. Avdagić, V. Štimac, I. Palej, A. Čikoš, V. Šunjić, S. Alihodžić, An expeditious method for the preparation of 2-hydroxy-1,4-dioxane and its use in reductive alkylation of amines, *Synthesis* **2** (2010) 255–258.
 30. D. Filić, K. Starčević, D. Pešić, S. Jurmanović, E. Meenan, A. Spezzaferri, I. Đilović, B. Prugovečki, Crystal Structure and Physicochemical Properties of Crystalline Form of 2-O-[[3-[(7-chloro-4-quinolinyl)amino]propyl]-9-deoxy-9a-methyl-9a-aza-9a-homoerythromycin A, *J. Pharm. Sci.* **100** (7) (2011) 2586–2598.

SUMMARY

Chemistry in the Galapagos Research Center Ltd., Zagreb

V. Gabelica Marković,* M. Mesić, S. Alihodžić, and K. Kovačević

Galapagos Research Centre d. o. o., is a private research organization, active in the field of chemistry, biology, biomedicine, veterinary science and pharmacy. This article is devoted to the *International Year of Chemistry*; this review includes the areas of study undertaken by the chemists in the research centre. Also presented are the current techniques and technologies applied in the implementation of research and development projects.

The main activities of chemists are directed to the synthesis of new organic compounds resulting in potentially new medicines, their subsequent identification, structural characterization, purification process, magnification (*scale up*), the applied analysis of biological materials (DMPK – *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*) and the pharmaceutical development of preclinical candidates.

Project teams at *Galapagos* incorporate researchers of all relevant professions to explore the potential of new medicines. These include chemists (chemical engineers and technologists), biologists, medical doctors, veterinarians and pharmacists. The ultimate goal of each of the projects is to establish an effective, well-defined preclinical candidate, which is further developed in other parts of the organization (Belgium, France, Great Britain), otherwise in the development laboratories of large partner organizations.

This research article includes research and technology supported by concrete examples, and the results published in previous articles.

Galapagos Research Center Ltd.,
Prilaz baruna Filipovića 29, 10 000 Zagreb, Croatia

Received October 6, 2011
Accepted November 4, 2011