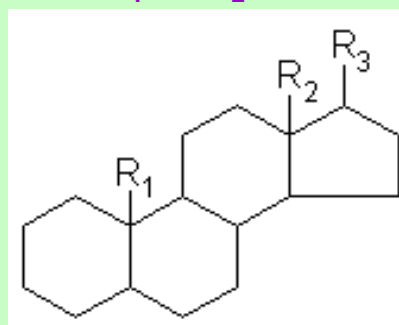
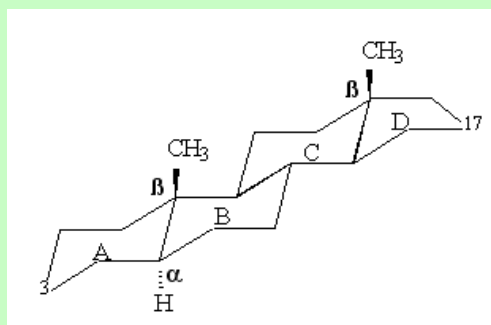


SZTEROIDKONVERZIÓK

A szterán váz planáris, merev szerkezet, pl. a 3-as és 17-es C-ek távolsága ill. a rajtuk levő szubsztituensek távolsága pontosan meghatározott. A szteránváz vegyületek bioszintézise soklépéses, hosszadalmas folyamat.

R_1 és R_2 = metil



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

1

Szteroidkonverziók

Gyógyszerként szteroid hormonokat, származékokat és analógokat alkalmaznak a szervezet szabályozó mechanizmusainak manipulálására.

Az emberi szervezetben működő szteroid hormonoknak szerepe van a:

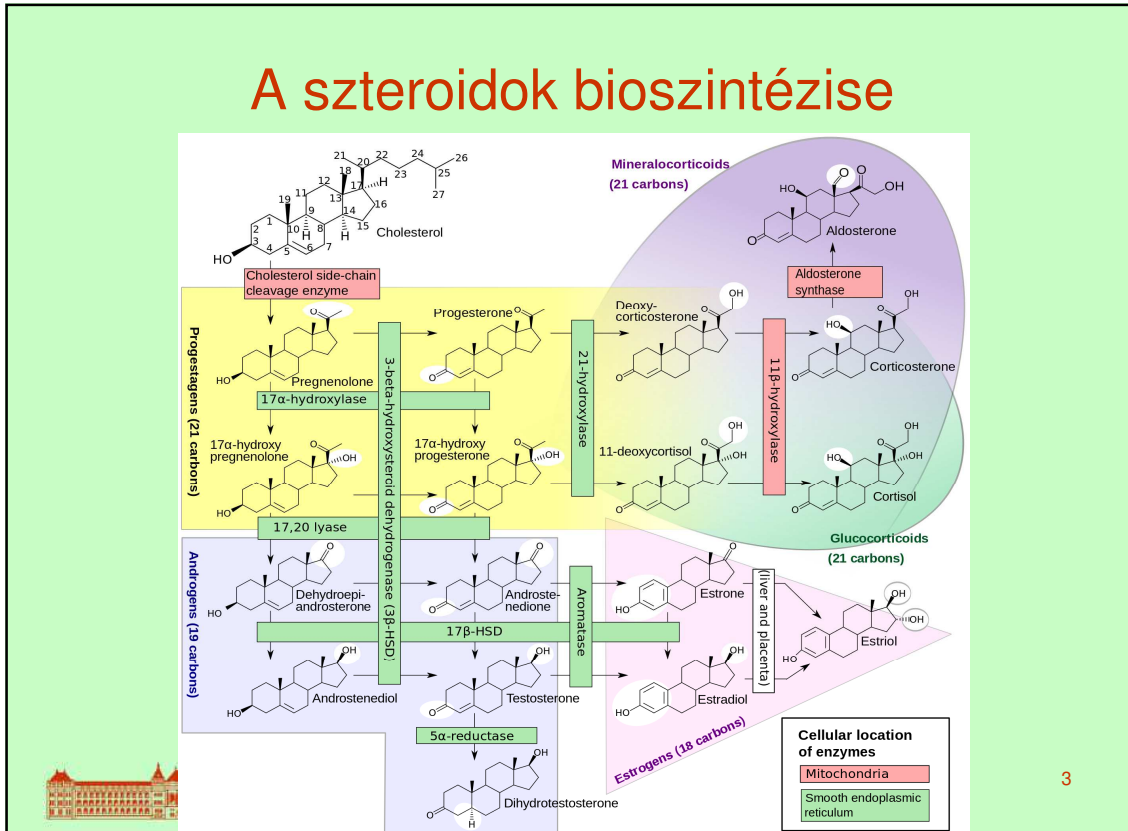
- víz- és sóháztartás szabályozásában (mineralokortikoidok)
- cukorháztartásban (glükoneogenezis) és a gyulladásos folyamatok szabályozásában (glükokortikoidok)
kortizol = „stresszhormon”
- nemi működésekben (ösztrogének, gesztagének, androgének)



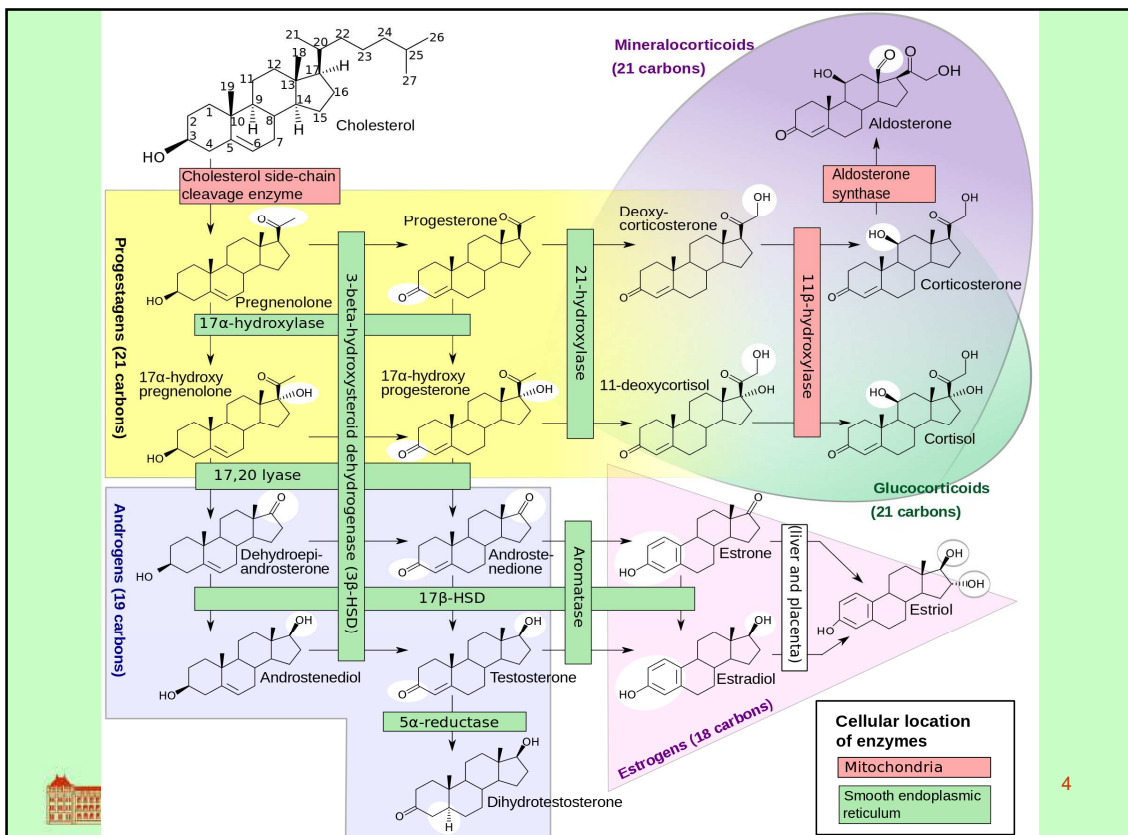
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

2

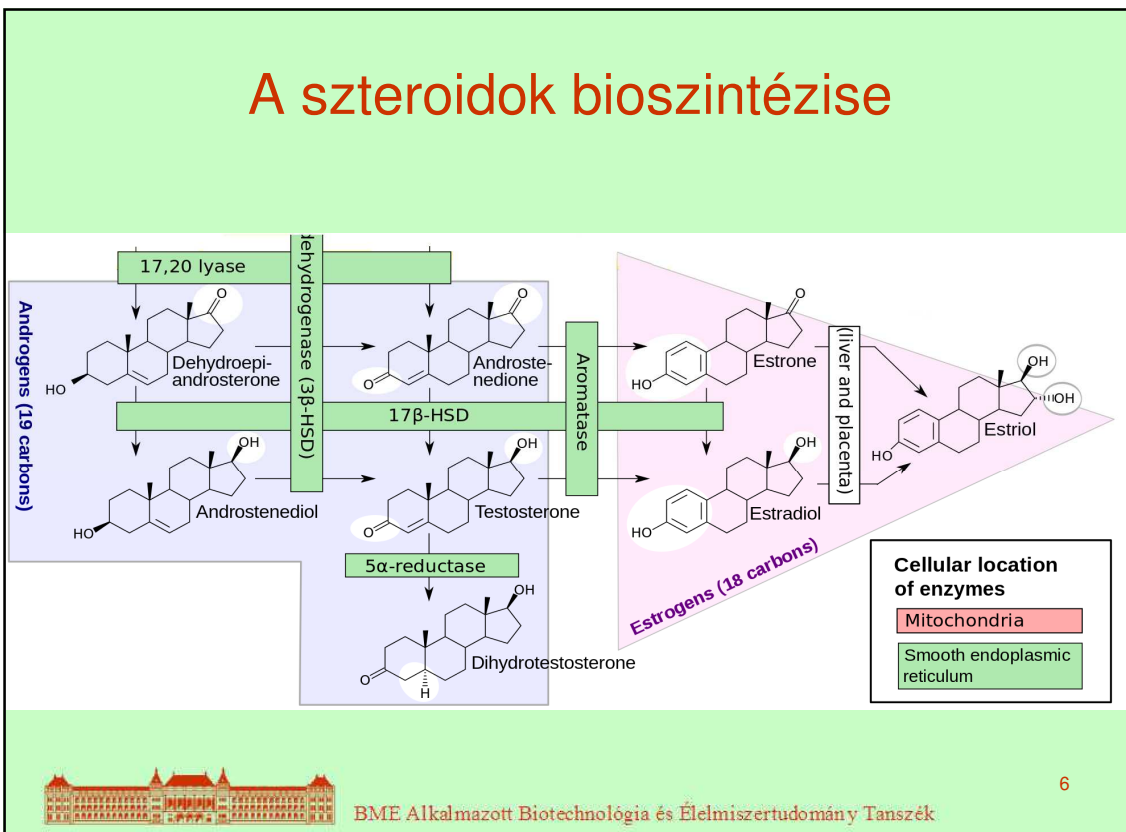
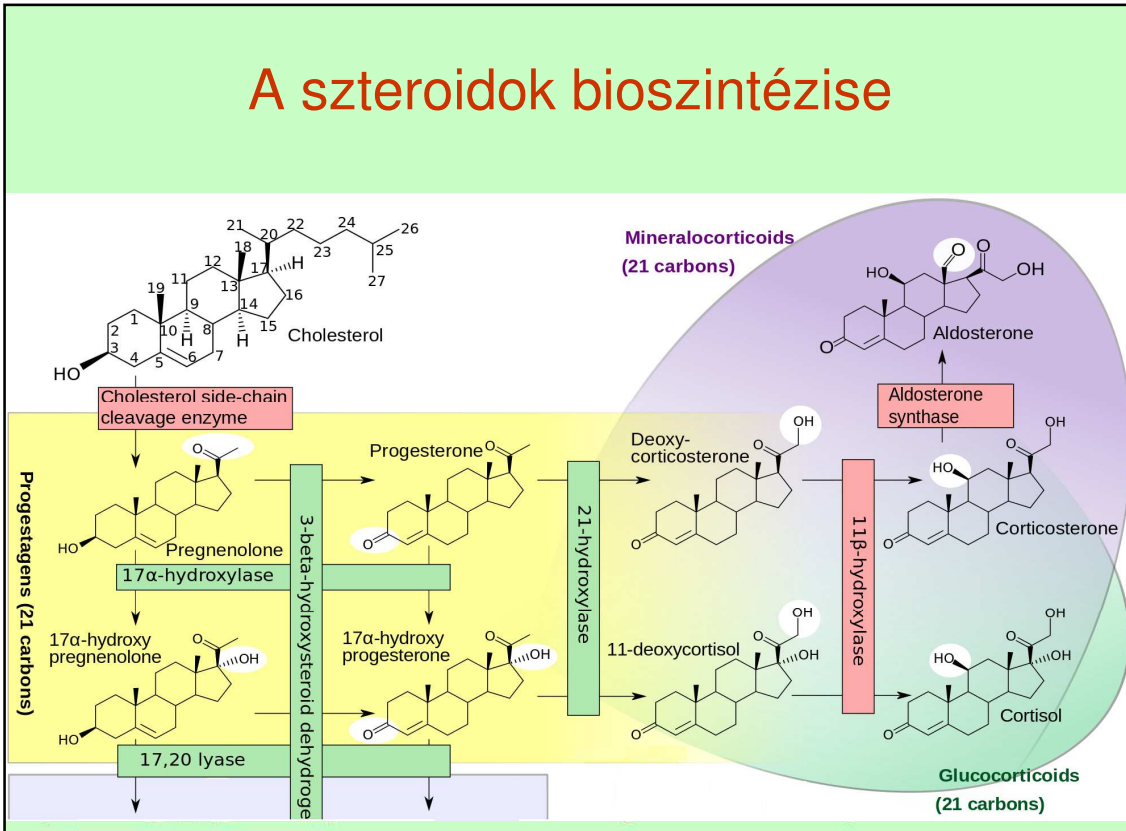
A szteroidok bioszintézise



3



4



Szteroidkonverziók

A szteroid hatóanyagokat nem kémiai totálszintézissel és nem is de novo fermentációval állítják elő, hanem természetes eredetű szteránvázas molekulák átalakításával, biokonverzióval. A kívánt szteroid kialakítása során egy-egy lépésben csak egy kis szerkezeti részt változtatnak meg. Kémiai és biológiai lépések egyaránt előfordulnak.

Száznál is több mikrobiológiai konverziót írtak már le, de a reakciók néhány alaptípusra korlátozódnak:

- Oxidáció (OH csoport oxidációja, bevitele, kettős kötés)
- Redukció (keto csoport, kettős kötés redukciója)
- (Hidrolízis)



Kiindulási anyagok

Növényi: szitoszterin (szójaolaj, fagyanta, tall olaj = a cellulóz gyártás mellékterméke), sztigmaszterin (babfélék), dioszgenin (mexikói növény gyökere)

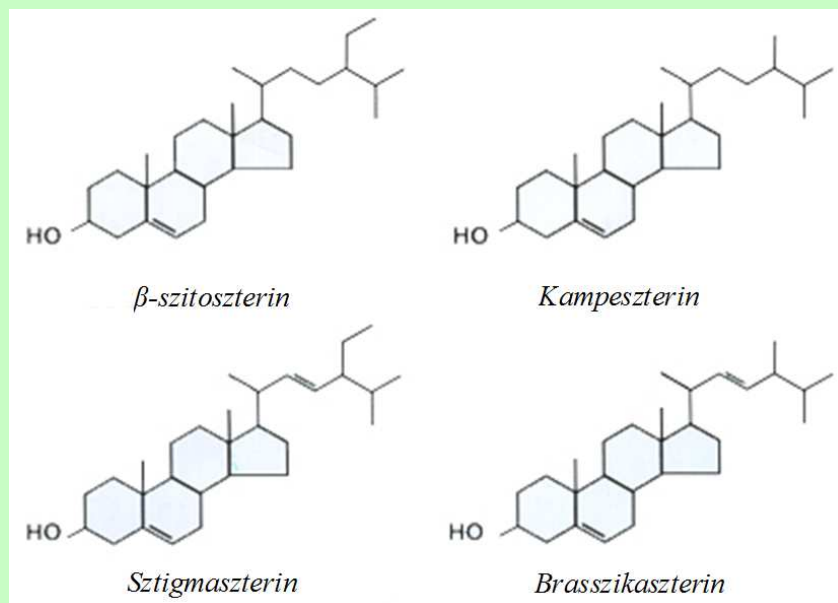
A szójaolaj eredetű nyersanyag háromféle növényi szteroidot tartalmaz: β -szitoszterin, sztigmaszterin és kampezterin. Főkomponens: >40% szitoszterin

Állati: koleszterin (epeváladék)

Szintetikus: β -naftol



Növényi szteroid alapanyagok



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

9

Szteroidkonverziók

Az enzimikus reakciók előnyei:

- Enyhe körülmények között végrehajthatók
- Sztereoselektív átalakítások lehetségesek
- Nem szükséges védőcsoportokat rátenni, majd levenni.

Hátránya:

Minden konverziós lépéshez külön enzimet (= törzset) kell keresni. A konverzióhoz használt enzimek szubsztrátja gyakran eredetileg nem is szteroid, hanem valamilyen más, analóg molekula = régióspecifikus enzimek.

Emiatt a megfelelő mikrotörzsek keresése (screening) nem tervezhető és nagyon munkaigényes.

A szükséges enzimeket általában nem izolálják, hanem nyugvósejtes tenyészetben használják.



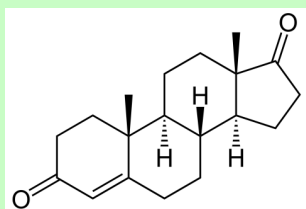
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

10

Szteroidkonverziók

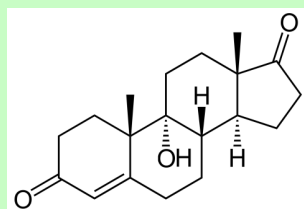
A folyamat első lépése az oldallánc lehasítása. A telített oldalláncú szteroidokat különböző mikrobákkal oxidálva 17-keto termékekhez jutunk:

AD

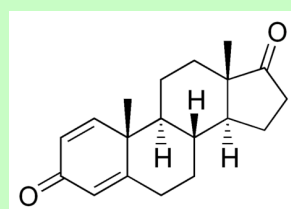


androsztén-dion

9OH-AD

9 α OH-androsztén-dion

ADD

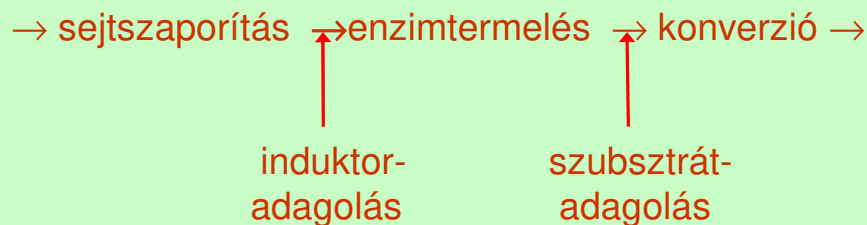


androsztén-diéndion



Technológiai kérdések

A sokféle konverziós technológia közös elemei összefoglalhatók egy sémába:



Technológiai kérdések

A szteroidok rosszul oldódnak vízben:

→ kristályfermentáció: a szubsztrát és a termék egyaránt kristályos formában van jelen, látszólag nem történik semmi.



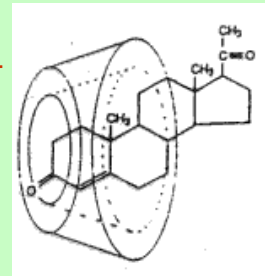
BME Alkalm



Technológiai kérdések

A szubsztrát bevitelét különböző trükkökkel kell megoldani:

- A szubsztrátot oldószerben (alkohol) veszik fel, a fermentorba lassan becsorgatva kikristályosodik
- Tenzidekkel, detergenssekkel megolvasztva stabil emulziót készítenek, lehűtve apró kristályok keletkeznek
- Ciklodextrinek – molekuláris csomagolás →



Ha *Mycobacterium*okat használnak, akkor a viaszos falú sejtek rátapadnak a szteroid kristályokra.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

14

A szubsztrát bevitele

A szitoszterinből a szénforrásként alkalmazott glicerinnel és különböző tenzidekkel (Tween-80, Struktol, polipropilén-glikol) együtt vizes rendszerben intenzív keverés mellett 121 C°-on (sterilizációs hőfoka) az olvadékból emulziót készítenek.

A szuszpenziót kiegészítik az egyéb táptalaj-komponensekkel (szójaliszt, NH₄Cl, KH₂PO₄, CaCO₃) = tápoldat.

Beállítják a pH-t, majd 121 C°-on sterilizálják. A kétszeri hőkezelés során a tenzidek jelenlétében a szitoszterin átkristályosodik és igen apró szemcseméretű lapos, illetve tűs kristályok képződnek.



Technológiai kérdések

Feldolgozás: az apoláros szteroidok izolálásának jellemző művelete az extrakció.

Tipikus lépések:

1. Teljes extrakció: „erős” oldószerrel (pl. halogénezettek) minden szteroidot és lipidet kivonnak
2. Fázisok szétválasztása
3. Oldószer lehajtása
4. Szelektív extrakció: pontosan beállított polaritású oldószer(keverék)kel egy komponens kioldására törekednek a sok közül.

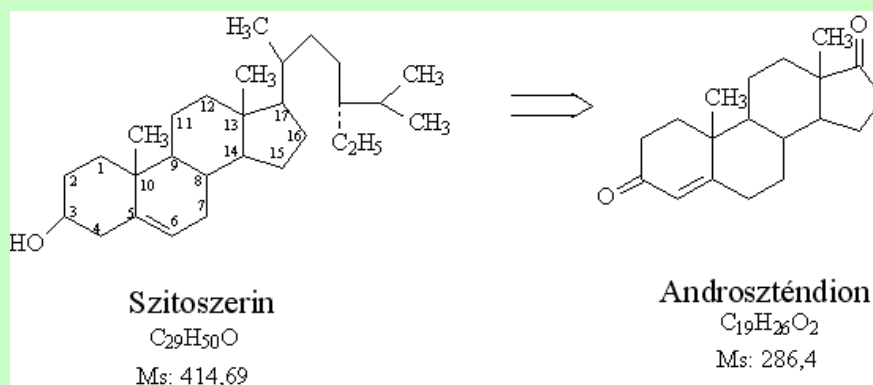


Szitoszterinből előállított vegyületek

Androsztén-dion (AD): több hatóanyag intermediere.

Piaca > 1000 t/év

A szitoszterin oldalláncának a lebontását a *Mycobacterium phlei* törzsszel végzik.

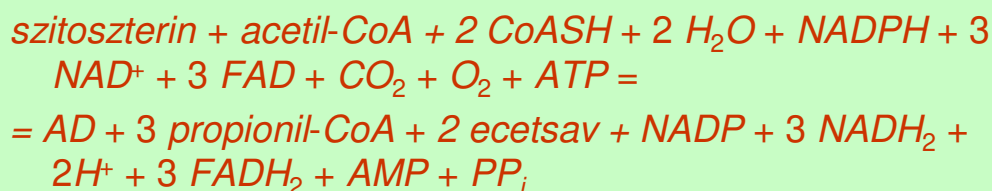


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

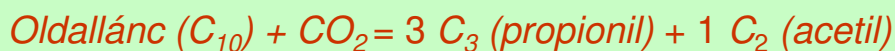
17

AD technológia

A szitoszterin átalakítása nem egy lépéses folyamat, összesen 11 enzim játszik szerepet, 14 egymást követő lépésben. A reakció összesített sztöchiometriai egyenlete:



Szénatomokra:



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

18

AD technológia

A konverzió hatásfoka kb. 70%-os:

24 g/l szitoszterinből kb. 10 g/l AD + 3 g/l szitoszterin + 1g/l egyéb anyag keletkezik.

Az oldott CO₂ koncentráció javítja a kihozataalt, emiatt a túlzott levegőztetés hátrányos.

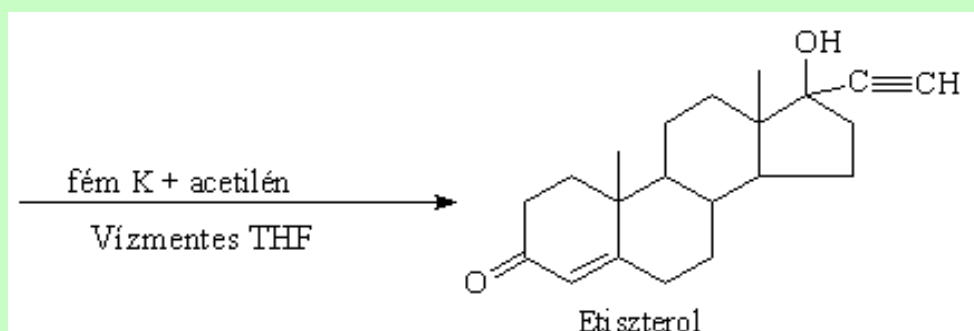
Totálextrakció: a teljes fermentlevet extrahálják diklór-metánnal, majd lehajtják az oldószert.

A szelektív extrakciót 85%-os metanollal végzik, amely az androszténdiont oldja, de a szitoszterint nem.



AD technológia

A következő reakciólépés kémiai szintézis, vízmentes THF-ben hajtják végre fém kálium és acetilén gáz jelenlétében.



AD technológia

A keletkezett etiszterol maga is gyógyszerhatóanyag (progeszteron hatású) de további hatóanyagok gyártásának kiindulási anyaga is:

finaszterid (jóindulatú prosztata megnagyobbodás ellen)

progeszteron származékok (két szénatomos egység a D gyűrűn) pl. droszpienon, ami fogamzásgátlók hatóanyaga

spironolakton (aldoszteron antagonistá = vízajtó)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

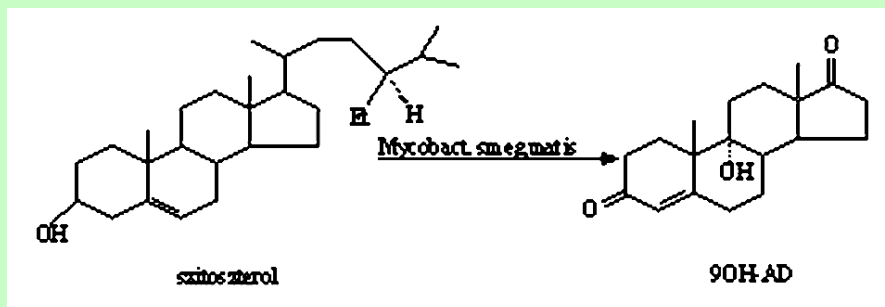
21

9 α OH-androszténdion technológia

A 9 α -OH AD a prednizolon gyártás intermedierje.

A *Mycobacterium smegmatis* enzimrendszere egy fermentációs lépésben távolítja el a szitoszterin oldalláncát és alakítja ki szelektíven a 9 α -OH csoportot.

Konverzió ~70%, 30 g/l bevitt szitoszterinből elméletileg 14,5 g/l, üzemben 10-11 g/l-es termékszint érhető el.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

22

Feldolgozás

A fermentlében ~ 12 g/l $9\alpha\text{OH-AD}$
 ~ 1-4 g/l szitoszterin
 ~ 1-3 g/l egyéb szteroid melléktermék

1. Totálextrakció diklór-metánnal (mindent kiold, ronda emulzió, nehéz szétválasztani)
2. Bepárlás (vákuumban)
3. Szelektív extrakció diizopropil-éterrel (a $9\alpha\text{OH-AD}$ -t oldja, a maradék szitoszterint nem)
4. A maradék szelektív extrakciója metanollal (a szitoszterint oldja, a $9\alpha\text{OH-AD}$ -t nem)

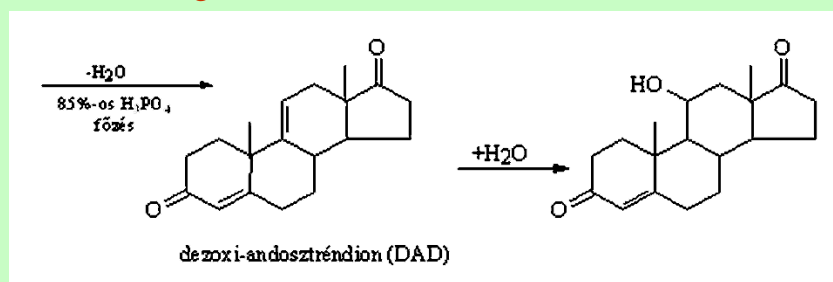


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

23

Kémiai reakciólépések

Dezoxi-androsztén-dion (DAD) gyártása: a vízelvonáshoz 85%-os H_3PO_4 -ban főzik, melynek hatására a 9 és a 11 szénatom között kettős kötés alakul ki, erre később könnyen addicionáltathatunk pl. vizet, vagy HF-ot. Addíciónál az elektronszívó csoport a 11 C atomra kötődik. Ez a szubsztitúció szükséges a kortikoszteroidoknál.



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

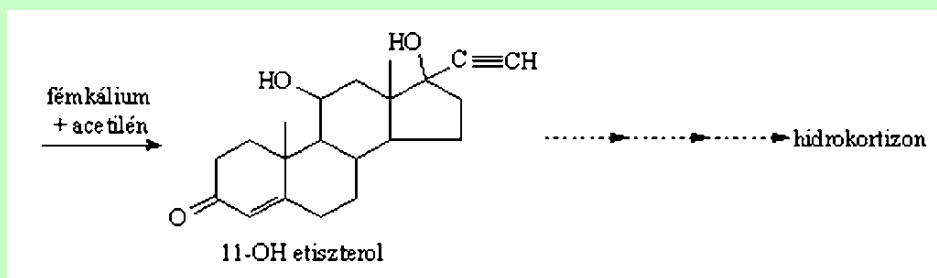
24

Kémiai reakciólépések

HF addíció → 11-F származékok → „szuperkortikoidok” = hatékony gyulladásgátlók.

C2 egység bevitele: Mint az etiszterolnál

Az oldallánc többlépcsés átalakításával → hidrokortizon



Gyulladásgátló szteroidok

A hidrokortizon (= cortisol)

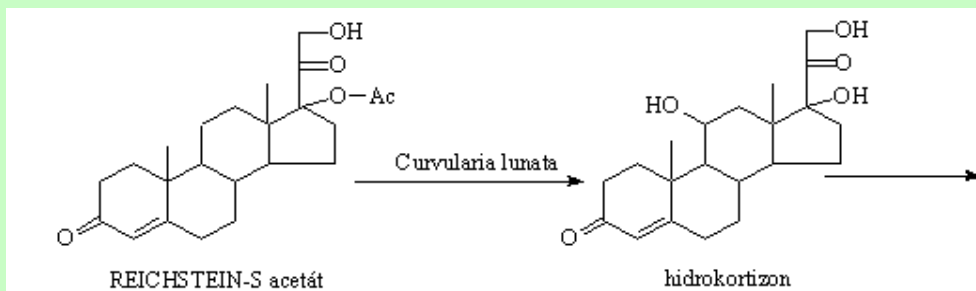
A kortizolnak gyulladáscsökkentő hatása mellett sok egyéb aktivitása van:

- „stresszhormon” – a stressz növeli a hormonszintet
- glükoneogenezis – növeli a cukorszintézist más szénvázakból, mobilizálja a glükózt, emeli a vércukorszintet.
- befolyásolja az ion- és vízháztartást mind a vesékben, mind a bél nyálkahártyáján.
- Elnyom egyes immunfolyamatokat.



Gyulladásgátló szteroidok

A hidrokortizon klasszikus előállítása Reichstein-S-acetátból történik (direkt 11-hidroxilezés).



Nem kívánt egyéb hatásai miatt prednizolont állítottak elő belőle, amely szintén gyulladásgátló, de kevesebb a mellékhatása →



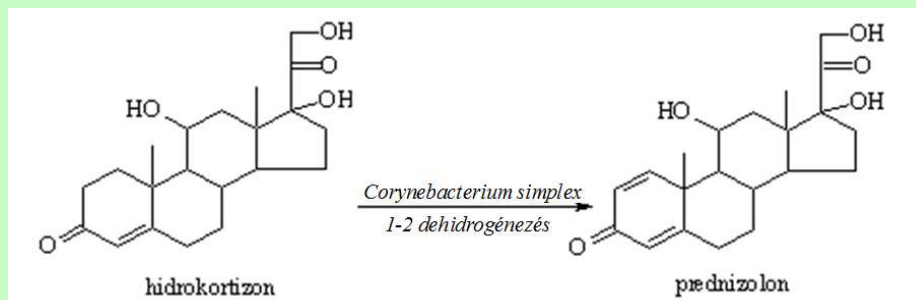
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

27

Gyulladásgátló szteroidok 2.

A vízben rosszul oldódó hidrokortizon szubsztrát bevitele ciklodextrin zárványkomplex segítségével valósítható meg. Az átalakulás csaknem 100%-os, kevés melléktermék keletkezik.

Feldolgozás: extrakció etilacetáttal, bepárlás

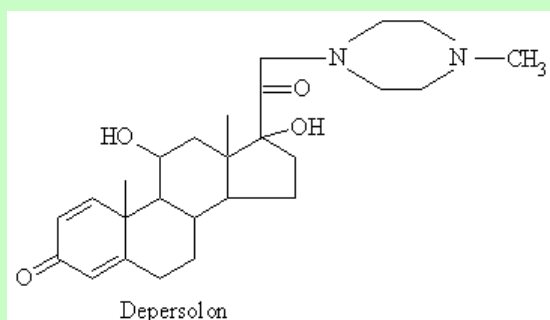


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

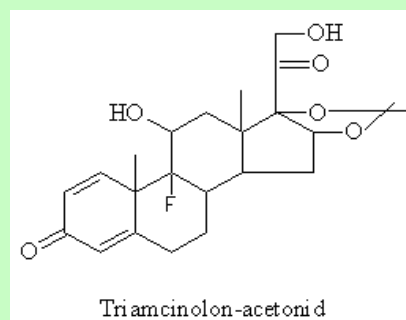
28

Gyulladásgátló szteroidok 3.

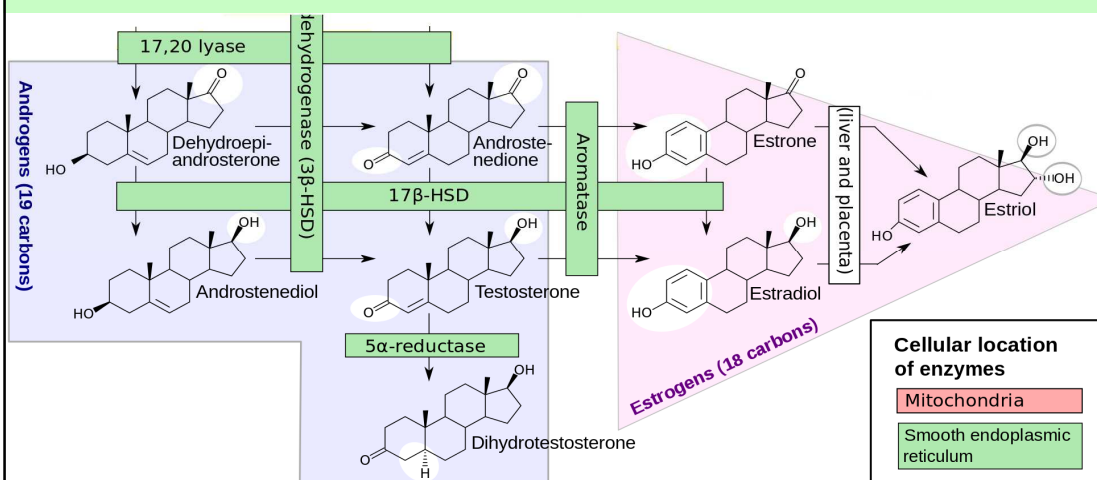
A prednizolon vízoldhatósága növelhető, különböző szubsztituensek hozzákapcsolásával:



A prednizolonból állítják elő a FTOROCORT ke-
nőcs hatóanyagát, a triamcinolon-acetonid



Androgén szteroid hormonok



Az androgén szteroidok hatása kettős

Androgén hatás

- A férfi nemi szervek kifejlődése és növekedése
- A normális férfi szexuális működés fenntartása
- A másodlagos nemi jellegek kialakítása
- Szükségesek a hímivarsejtek éréséhez
- Több vörös véresejt (+ 10-20%, androgén többlet)

Anabolikus hatás

- Nitrogént tart vissza a szervezetben fehérjék formájában
- Izomtömeg növelése
- Fékezik a katabolizmust és a lebontó folyamatokat



Anabolikus szteroidok

Orvosilag lehet cél az anabolikus hatás (roborálás). Olyan származékokat keresnek, amelynél az anabolikus hatás nagyobb, az androgén pedig kisebb.

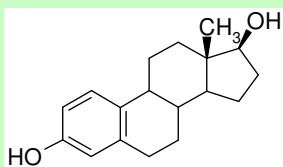
Ezeket sportolók és testépítők doppingszerként is alkalmazzák. (Sztanozolol, Nandrolon)

Magyarországon gyártott szer a Nerobol.



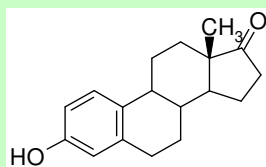
Női nemi szteroid hormonok

Természetes ösztrogének



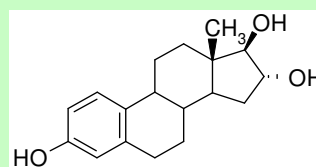
Ösztradiol

(estr-1,3,5-triene-3,17β-diol)



Ösztron

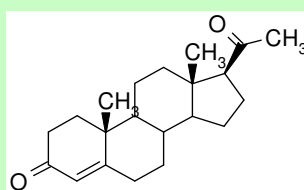
(3-hydroxy-estr-1,3,5-triene-17-one)



Ösztriol

(estr-1,3,5-triene-3,16,17-triol)

Természetes gesztagén



Progeszteron

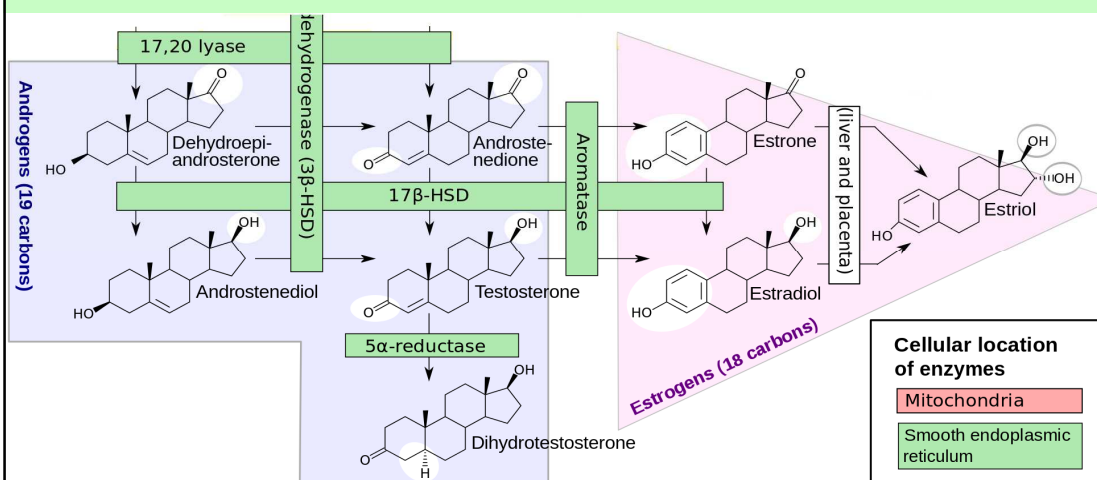
(Pregn-4-ene-3,20-dione)



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

33

Az ösztrogének bioszintézise



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

34

Női nemi szteroid hormonok

A természetes ösztrogének fiziológiai szerepe

- A női nemi szervek kifejlődése
- A másodlagos nemi jellegek kialakítása (női + férfi)
- A peteérésben és a fogamzásban
- A csontsűrűség szabályozásában (női + férfi)
- Anyagcserében

A természetes gesztagének fiziológiai szerepe

- A terhesség megtartása
- A peteérés és ovuláció gátlása
- A spontán méhösszehúzódások gátlása



Fogamzásgátló szteroidok

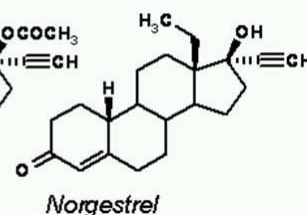
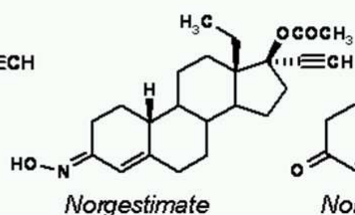
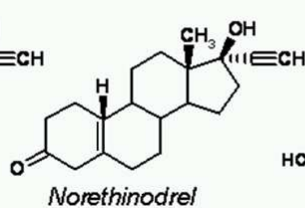
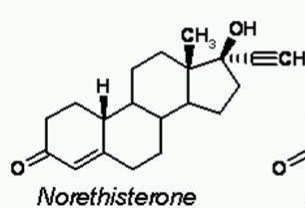
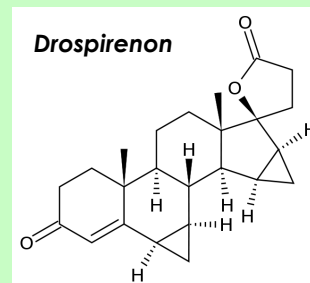
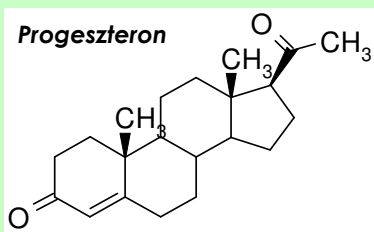
A hormonális fogamzásgátlás a gesztagén hatáson alapul: a szintetikus progeszterin analógok „elhitetik” a szervezettel, hogy a fogamzás megtörtént, így az újabb peteérésre nincs szükség.

Az egykomponensű tabletták csak progesztagén hatóanyagot tartalmaznak.

Ezek részben 19-nor-szteroidok (a 19-es metil csoport hiányzik), illetve más, szintetikusan előállított származékok.



Progesztagén szteroidok



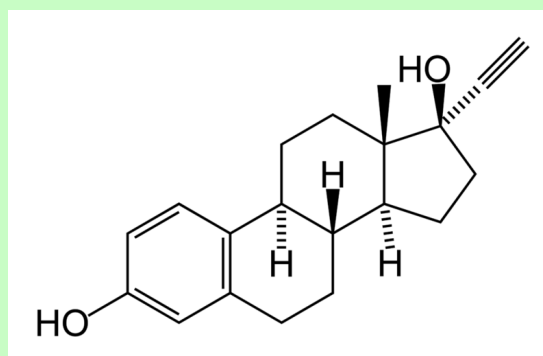
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

37

Fogamzásgátló szteroidok

A kétkomponensű tabletták a progesztagén hatóanyag mellett egy ösztrogén típusú molekulát is tartalmaznak. Ezek változó arányával (két, illetve három szakasz) jobban modellezik a női hormonális ciklust.

Etinil-ösztradiol:



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

38