

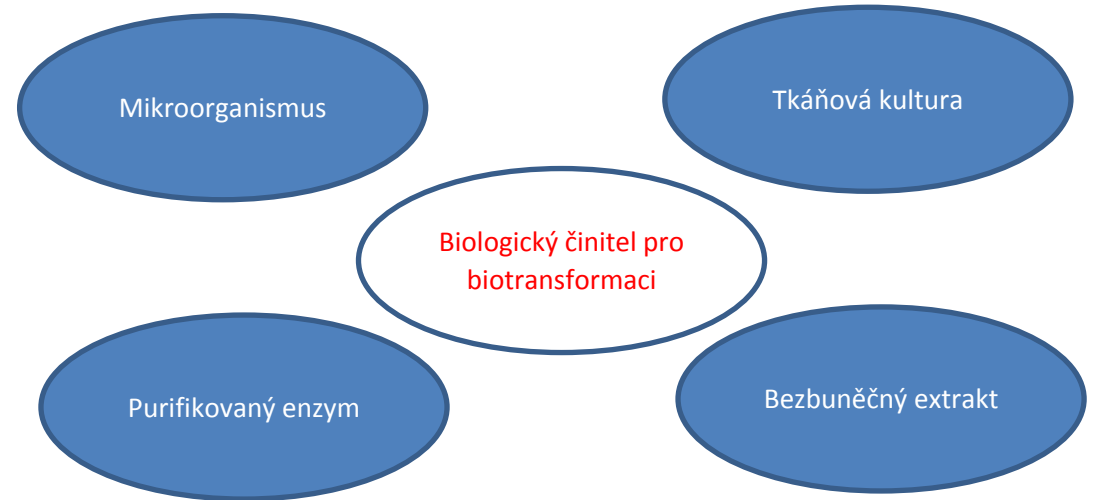
Biotransformace

Matouš Čihák

Biotransformace

Teoretický úvod

- Biotransformace (biokatalýza) je selektivní enzymová modifikace čistých látek vedoucí ke vzniku definovaných konečných produktů.
- Biotransformaci zprostředkovává biologický činitel.



Doporučená literatura:

Smitha MS, Singh S, Singh R. Microbial bio transformation: a process for chemical alterations. *J Bacteriol Mycol Open Access*. 2017;4(2):47-51 DOI: [10.15406/jbmoa.2017.04.00085](https://doi.org/10.15406/jbmoa.2017.04.00085)

Biotransformace

Teoretický úvod

Hlavními směry aplikace biotransformací jsou:

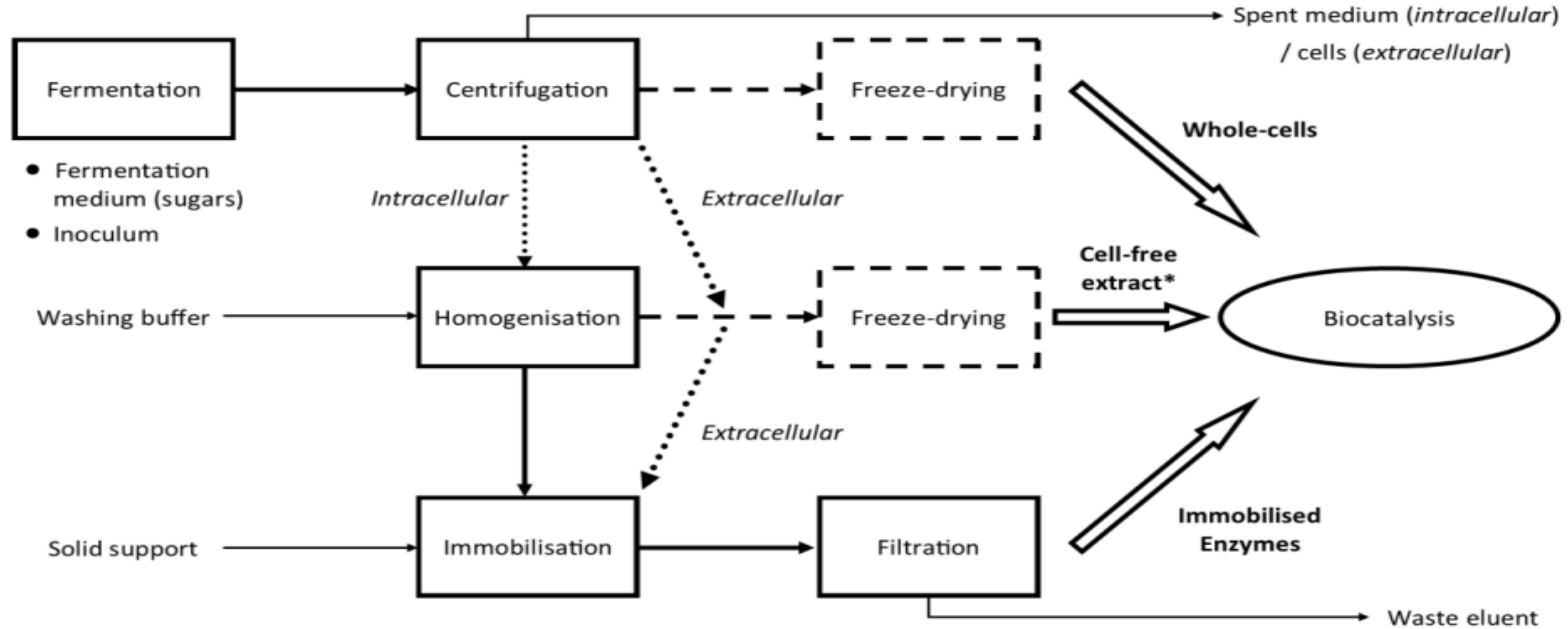
- A. specifické modifikace struktury molekuly (např. selektivní zavedení funkční skupiny),
- B. částečná degradace molekuly,
- C. rozšíření molekuly.

Z hlediska typů transformovaných látek se jedná nejčastěji o:

- Steroidní látky
- Antibiotika
- Alkaloidy
- Aminokyseliny
- Sacharidy
- Terpenoidy
- Aromáty a heterocykly

Biotransformace

Teoretický úvod



Blokové schéma předcházející výroby pro různé formulace biokatalyzátorů. Přerušované čáry označují volitelné kroky (lyofilizace) a tečkované čáry rozlišují extracelulární nebo intracelulární expresi proteinu

*Lyofilizovaný bezbuněčný extrakt je upřednostňovanou formulací pro delší použití, skladování enzymů a snadnější manipulaci v procesu.

Biotransformace

Teoretický úvod – Charakteristika biotransformačních reakcí

Reakční podmínky	Mírné <ul style="list-style-type: none">Teplota <40 °CpH 7atm. tlak
Specifita reakce	Vysoká (stereospecifita, specifita místa účinku) <ul style="list-style-type: none">Produkce chirálních produktů (L-jablečná kys.)Modifikace jediného enantiomeru v racemické směsi (D-, L-aminokyseliny)Specifické zavedení funkční skupiny (D-sorbitol ↔ L-sorbosa, <i>Acetobacter suboxydans</i>)Mutační biosyntéza (mutovaný mikroorganismus vyžadující konkrétní prekursor)
Substrát	Ideálně netoxický a snadno procházející membránou (viz také případové studie)
Mikroorganismy	Ideálně s širokou nabídkou metabolických drah (např. půdní bakterie <i>Streptomyces</i>) a schopností růstu na běžných substrátech.

Biotransformace

Teoretický úvod – Typy biotransformačních reakcí

Typ procesu biotransformace	Výhody	Nevýhody
V rostoucí kultuře	<ul style="list-style-type: none">• Substrát společně s inokulem• Rychlý screening	<ul style="list-style-type: none">• Substrát nesmí inhibovat růst inokula• Tvorba vedlejších produktů• Degradace produktu
S předem narostlými buňkami	<ul style="list-style-type: none">• Možnost optimalizace výtěžku• Vysoká koncentrace buněk• Malé nebezpečí kontaminace• Relativně snadná izolace produktu	<ul style="list-style-type: none">• Časová náročnost (1. fáze nárůst biomasy, 2. fáze biotransformace)• Nutná izolace biomasy• Tvorba vedlejších produktů• Degradace produktu

Biotransformace

Teoretický úvod – Typy biotransformačních reakcí

Typ procesu biotransformace	Výhody	Nevýhody
S imobilizovanými buňkami	<ul style="list-style-type: none">• Vyšší stabilita systému/enzymu• Možnost kontinuálního provedení• Vysoká hustota buněk i vyšší reakční rychlost• Není nutná izolace enzymu• Přirozená dostupnost kofaktorů oproti imobilizovaným enzymům	<ul style="list-style-type: none">• Nutná optimalizace postupu imobilizace• Tvorba vedlejších produktů• Degradace produktu• Nevhodné pro extracelulární enzymy a živočišné a rostlinné
S purifikovanými enzymy	<ul style="list-style-type: none">• Aplikace pro substráty, které nepřečází přes membránu intaktní buňky• Živočišné nebo rostlinné enzymy• Komerční dostupnost• Možnost imobilizace	<ul style="list-style-type: none">• Suplementace kofaktory

Biotransformace

Příklad – Antibiotika

- Příprava polosyntetických preparátů. Proč?
 - Lepší farmakokinetické vlastnosti (vstřebávání, eliminace)
 - Vyšší účinnost (aktivní vůči rezistentním mikroorganismům, širší účinnost, nové účinky)
 - Nižší toxicita
- Využití biotransformace při přípravě strukturně odlišných antibiotik **ampicilinu** a **amoxicillinu**.



China Dominates the Antibiotics Market

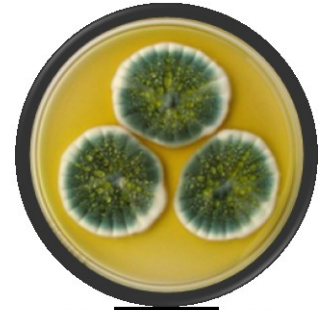
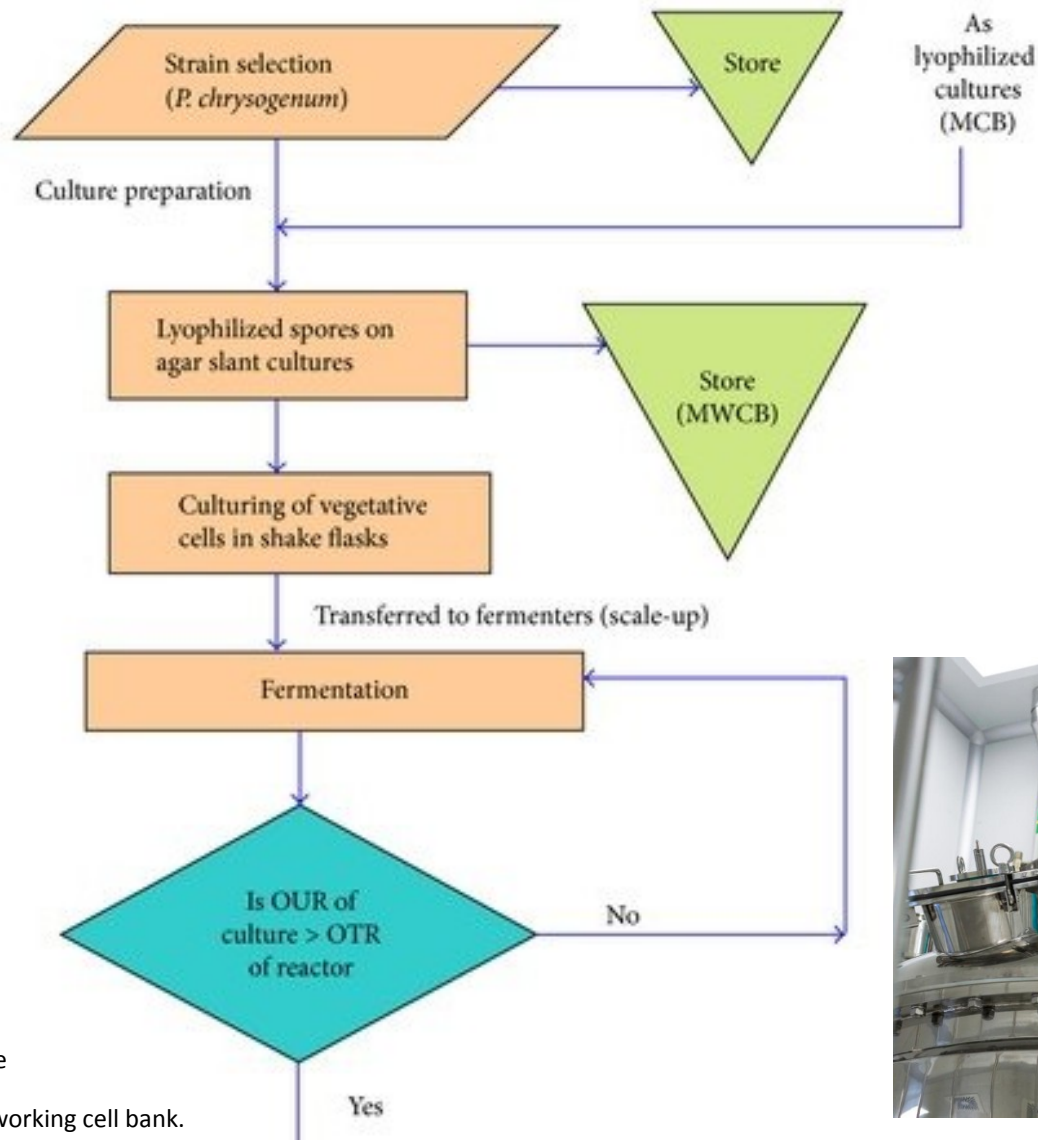
Distribution of total global antibiotics export value in 2021, by country (in percent)



Source: ITC

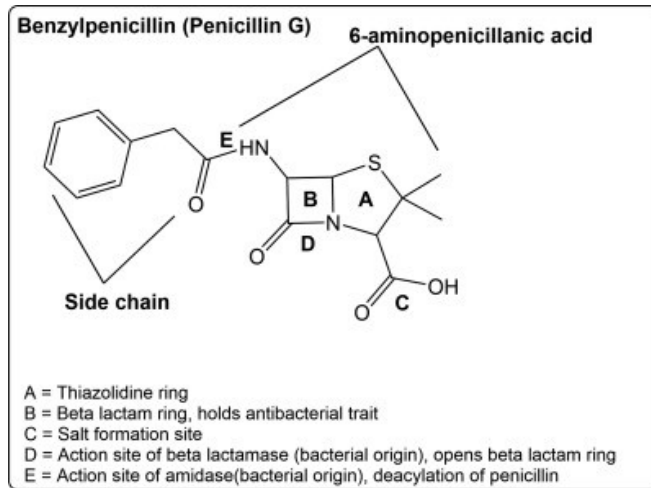
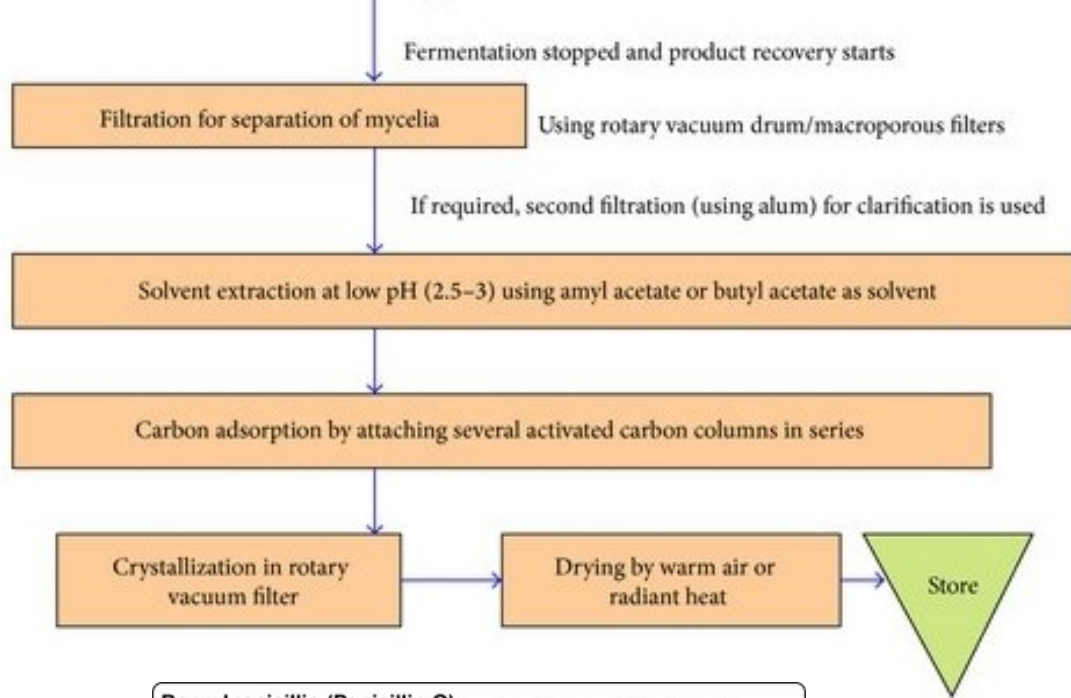


Upstream processing

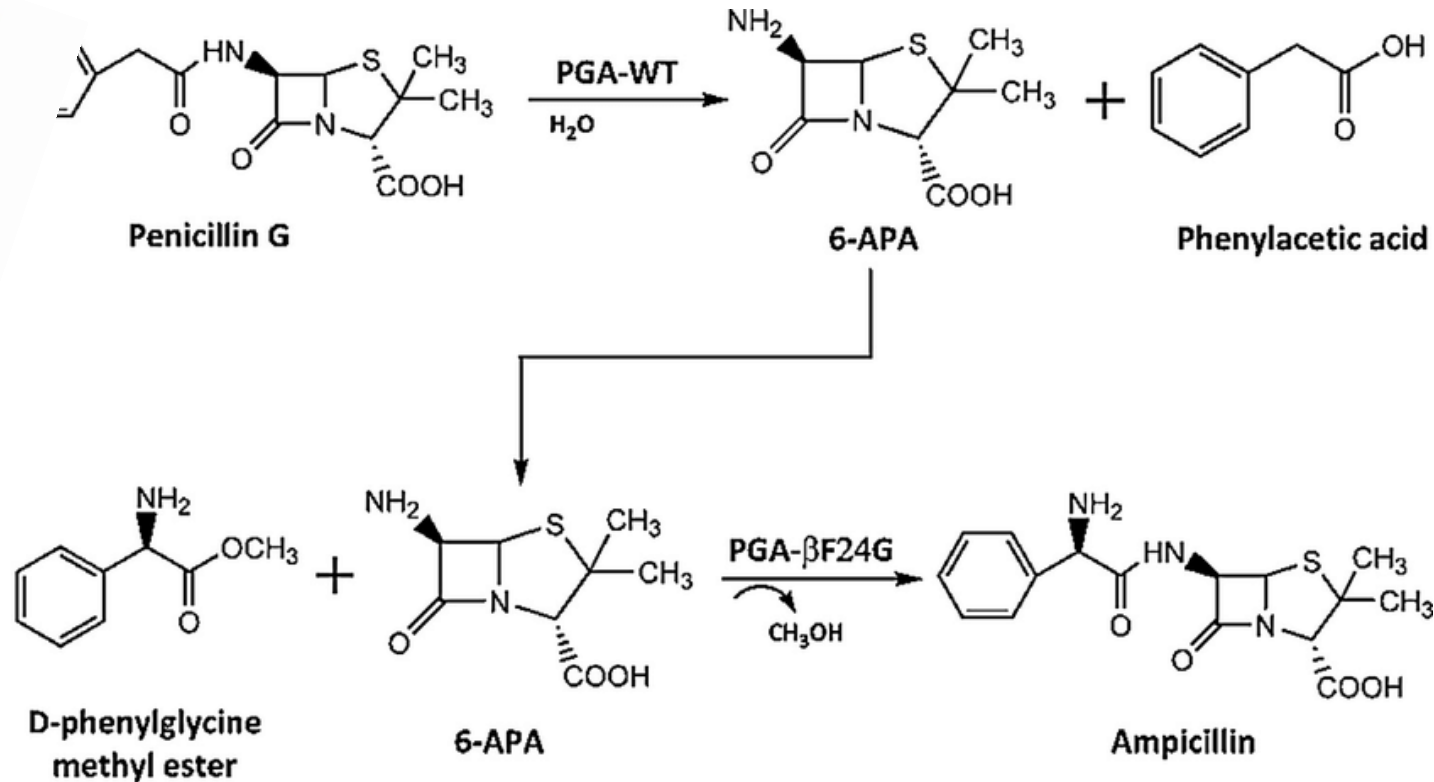


“OUR”: oxygen uptake rate
“OTR”: oxygen transfer rate
“MCB”: master cell bank
“MWCB”: manufacturer’s working cell bank.

Downstream processing



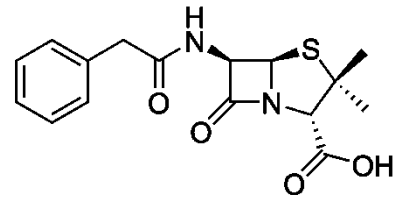
Enzymatická příprava ampicilinu z penicilinu G



V čem spočívá výhoda ampicilinu oproti penicilinu G?

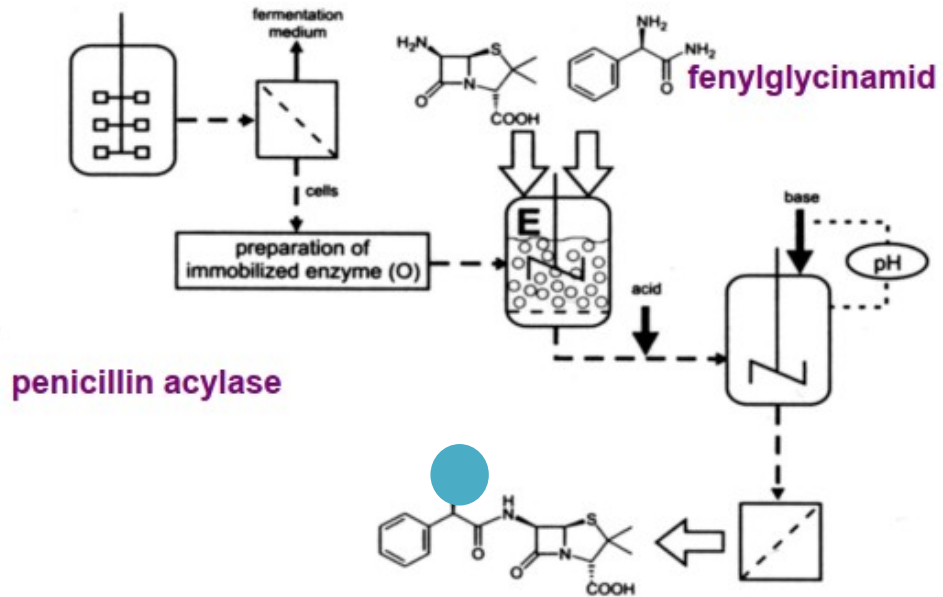
Biotransformace

Příklad – Antibiotika

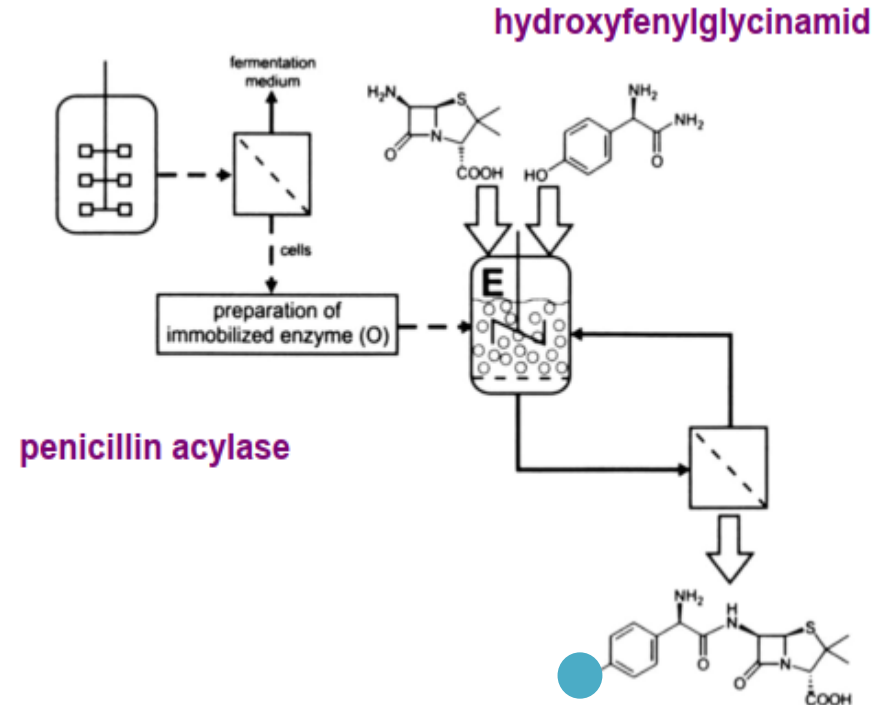


Penicilin G

Flow scheme for ampicillin:



Flow scheme for amoxicillin:



Přehled penicilinů

základní peniciliny	penicilin G, penicilin V	
antistafylokokové peniciliny	oxacilin, cloxacilin, docloxacilin, flucloxacilin	
širokospektré peniciliny	aminopeniciliny	ampicilin, amoxicilin
	karboxypeniciliny	ticarcilin
	acylureidopeniciliny	piperacilin

Separace a čištění produktů

Případové studie

Problém	
<input type="checkbox"/>	Bakteriální kultura je v přítomnosti substrátu inhibována v růstu.
<input type="checkbox"/>	Nízký výtěžek biotransformace při použití buněčné kultury.
<input type="checkbox"/>	Nízký výtěžek biotransformace.
<input type="checkbox"/>	Žádaný produkt není jediným konečným produktem.
<input type="checkbox"/>	GMO producent pro biotransformaci neroste na transformovaném substrátu