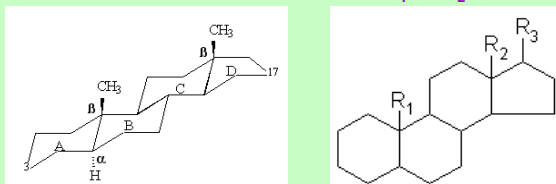


SZTEROIDKONVERZIÓK

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 szteránvázas vegyületek bioszintézise soklépéses, hosszadalmas folyamat.

R₁ és R₂ = metil



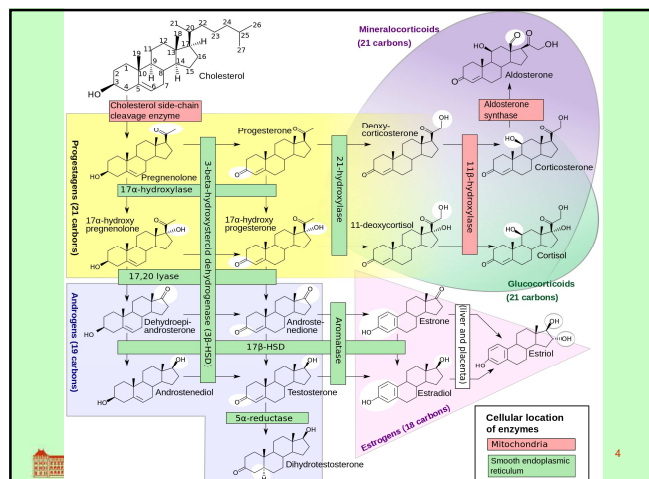
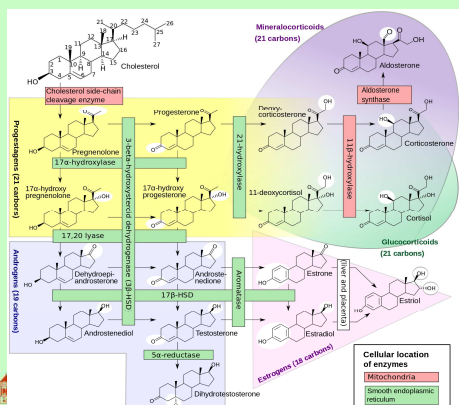
Szteroidkonverziók

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

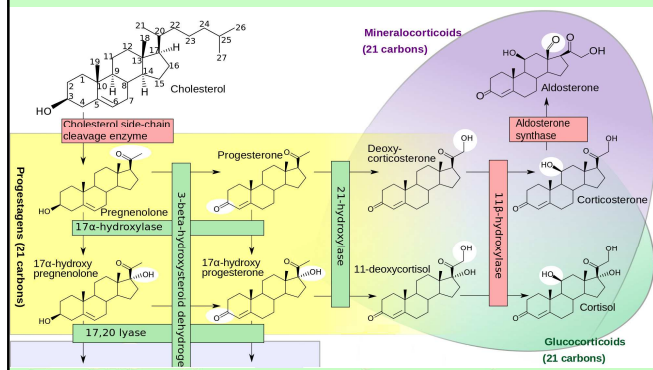
Az emberi szervezetben működő szteroid hormonoknak szerepe van a:

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

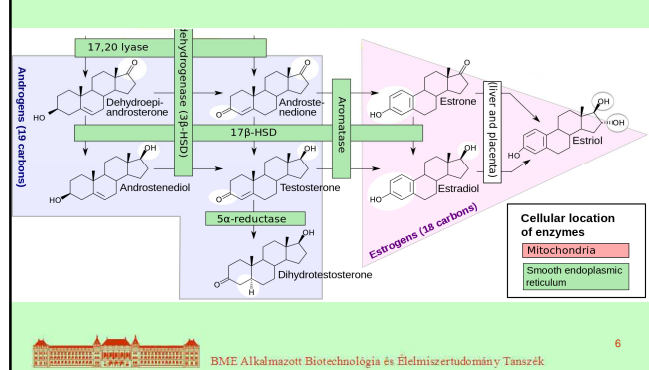
A szteroidok bioszintézise



A szteroidok bioszintézise



A szteroidok bioszintézise



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)

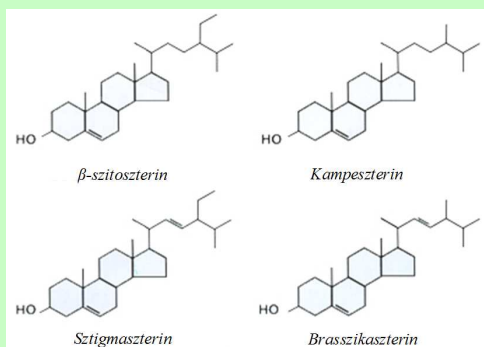
A szójaolaj eredetű nyersanyag háromféle növényi szteroidot tartalmaz: β -szitoszterin, sztigmaszterin és kampszterin. Főkomponens: >40% szitoszterin

Állati: koleszterin (epeváladék)

Szintetikus: β -naftol



Növényi szteroid alapanyagok



Szteroidkonverziók

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



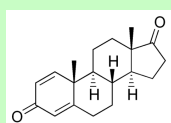
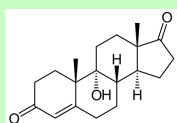
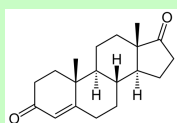
Szteroidkonverziók

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

AD

9OH-AD

ADD



androsztén-dion

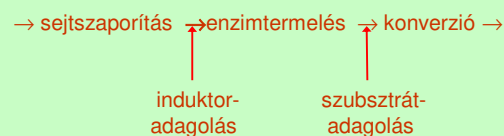
9 α OH-androsztén-dion

androsztén-diéndion



Technológiai kérdések

A sokféle konverziós technológia közös elemei összefoglalhatók egy sémába:



Technológiai kérdések

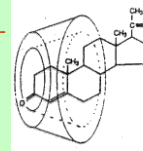
A szteroidok rosszul oldódnak vízben:
→ kristályfermentáció: a szubsztrát és a termék egyaránt kristályos formában van jelen, látszólag nem történik semmi.



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.

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 (sterilizálás 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 sterilizik. 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:

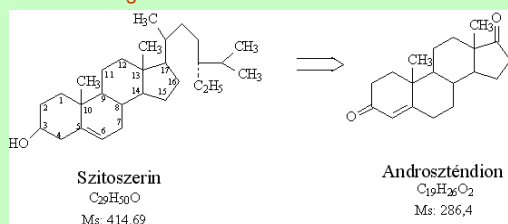
1. Teljes extrakció: „erős” oldószerrel (pl. halogénezettek) minden szteroidot és lipidet kivonnak
2. Fázisok szétválasztása
3. Oldószer lehajtása
4. Szelektív extrakció: pontosan beállított polaritású oldószer(keverék)kel egy komponens kioldására törekednek a sok közül.

Szitoszterinből előállított vegyületek

Androsztén-dion (AD): több hatóanyag intermediere.

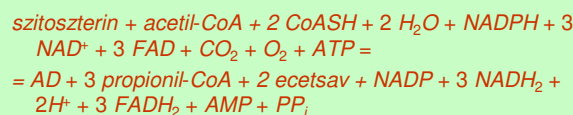
Piaci > 1000 t/év

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

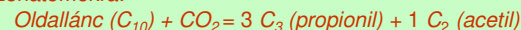


AD technológia

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



Szénatomokra:



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 kihozatalt, emiatt a túlzott levegőztetés hátrányos.

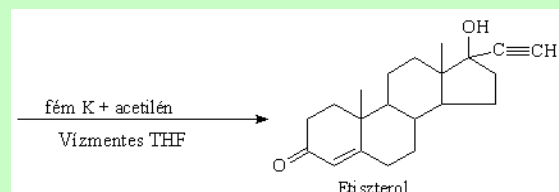
Totalextrakció: a teljes fermentlevet extrahálják diklór-metánnal, majd lehajtják az oldószert.

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)

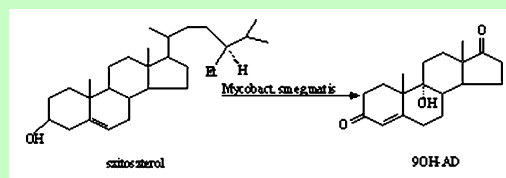
progeszteron származékok (két szénatomos egység a D gyűrűn) pl. drospironon, ami fogamzásgátlók hatóanyaga

spironolakton (aldoszteron antagonistá = vízhajtó)



9αOH-androszténdion technológia

A 9α-OH AD a prednizolon gyártás intermedijere.
A *Mycobacterium smegmatis* enzimsziszteme egy fermentációs lépésben távolítja el a szitoszterin oldalláncát és alakítja ki szelektíven a 9α-OH csoportot.
Konverzió ~70%, 30 g/l bevitt szitoszterinből elméletileg 14,5 g/l, üzemben 10-11 g/l-es termékszint érhető el.



Feldolgozás

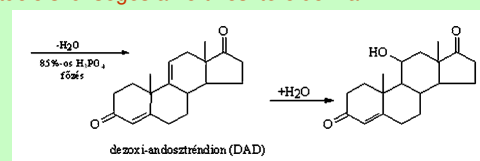
A fermentlében ~ 12 g/l 9αOH-AD
~ 1-4 g/l szitoszterin
~ 1-3 g/l egyéb szteroid melléktermék

1. Totalextrakció diklór-metánnal (mindent kiold, ronda emulzió, nehéz szétválasztani)
2. Bepárlás (vákuumban)
3. Szelektív extrakció diizopropil-éterrel (a 9αOH-AD-t oldja, a maradék szitoszterint nem)
4. A maradék szelektív extrakciója metanollal (a szitoszterint oldja, a 9αOH-AD-t nem)



Kémiai reakciólépések

Dezoxi-androsztén-dion (DAD) gyártása: a vízelvonáshoz 85%-os H₃PO₄-ban főzik, melynek hatására a 9 és a 11 szénatom között kettős kötés alakul ki, erre később könnyen addicionáltathatunk pl. vizet, vagy HF-ot. Addicionál az elektronszívó csoport a 11 C atomra kötődik. Ez a szubsztitúció szükséges a kortikoszteroidoknál.

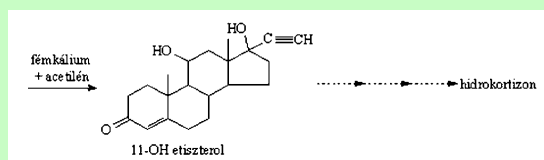


Kémiai reakciólépések

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

C2 egység bevitel: Mint az etiszterolnál

Az oldallánc többlépéses átalakításával → hidrokortizon



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

25

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.

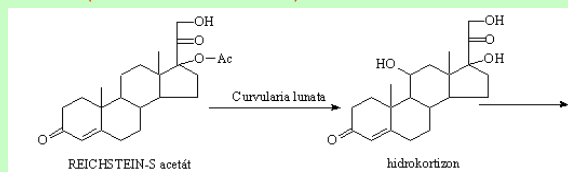


BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

26

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 →



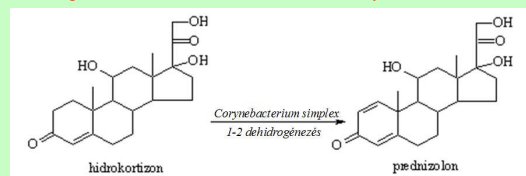
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

27

Gyulladásgátló szteroidok 2.

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

Feldolgozás: extrakció etilacetáttal, bepárlás



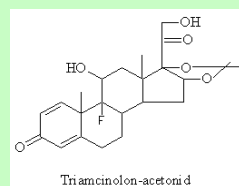
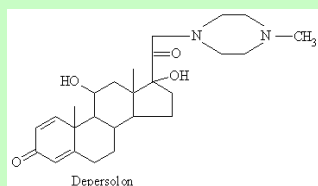
BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

28

Gyulladásgátló szteroidok 3.

A prednizolon vízoldhatósága növelhető, különböző szubsztituensek hozzákapcsolásával:

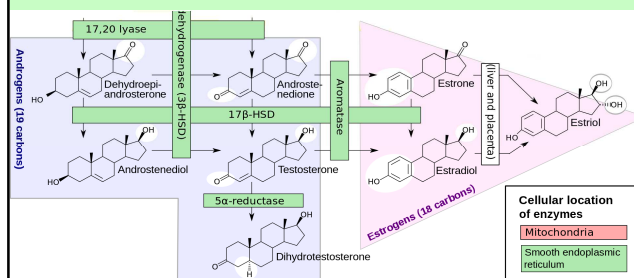
A prednizolonból állítják elő a FTOROCORT kenőcs hatóanyagát, a triamcinolon-acetonidot



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

29

Androgén szteroid hormonok



BME Alkalmazott Biotechnológia és Élelmiszertudomány Tanszék

30

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 hímivarsejtekéréséhez
- Több vörös vérséjt (+ 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.

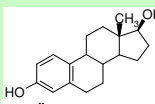
Ezeket sportolók és testépítők doppingszerként is alkalmazzák. (Sztanozolol, Nandrolon)

Magyarországon gyártott szer a Nerobol.



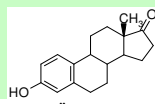
Női nemi szteroid hormonok

Természetes ösztrogének



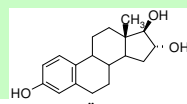
Ösztradiol

(estr-1,3,5-triene-3,17β-diol)



Ösztron

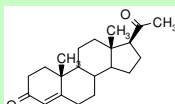
(3-hydroxy-estr-1,3,5-triene-17-one)



Ösztriol

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

Természetes gesztagén

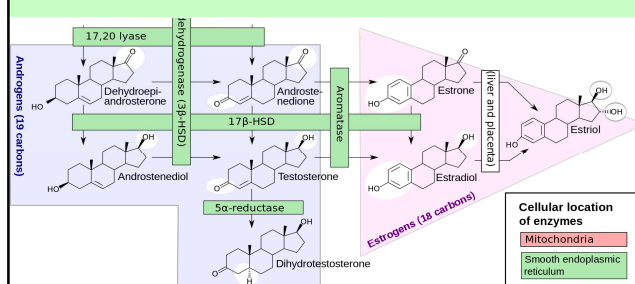


Progesszteron

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



Az ösztrogének bioszintézise



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 méhösszehúzóadások gátlása



Fogamzásgátló szteroidok

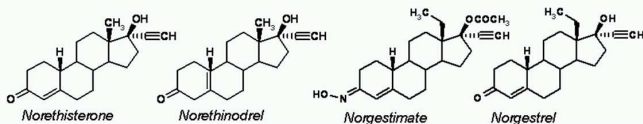
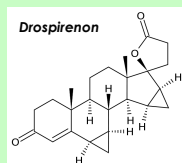
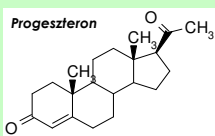
A hormonális fogamzásgátlás a gesztagén hatáson alapul: a szintetikus progesszterin analógok „elhitetik” a szervezettel, hogy a fogamzás megtörtént, így az újabb peteérésre nincs szükség.

Az egykomponensű tabletták csak progessztagén hatóanyagot tartalmaznak.

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



Progesztagén szteroidok



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:

