

Biokatalytisk procesteknologi i produktionen af lægemidler

I den farmaceutiske industri er der stor efterspørgsel efter miljøvenlige og økonomiske synteseveje, der opfylder produktspecifikationer. Biokatalyse er et selektivt og miljøvenligt alternativ til kemisk syntese, men for at opnå en succesfuld implementering af biokatalyse i lægemiddelproduktion er der behov for værktøjer til at udvælge egnede procesteknologier

Af Pär Tufvesson, Liv S. Christiansen, Jacob S. Jensen og John M. Woodley, Institut for Kemiteknik, DTU

Enzymer er velegnede katalysatorer til brug i fremstillingen af komplekse lægemidler. Dette skyldes især, at de udviser høj stereo- og regioselektivitet, og at de fungerer optimalt under milde procesforhold, herunder solvent-, temperatur- og pH-betingelser. Antallet af procestrin kan reduceres ift. traditionel syntese, idet behovet for beskyttelse af funktionelle grupper kan reduceres eller helt elimineres. Færre procestrin sikrer en mere effektiv udnyttelse af udgangsmaterialer og hermed en forbedret procesøkonomi og lavere miljøbelastning. Endelig kan enzymer danne chirale centre i komplekse molekyler med en høj stereoselektivitet. En stigende kompleksitet af fremtidens farmaceutiske molekyler giver flere fordele og muligheder for at anvende biokatalyse i syntesevejen, som alternativ til ikke-enzymatisk asymmetrisk kemi. Der eksisterer allerede i dag adskillige implementerede anvendelser af biokatalyse i den farmaceutiske industri [1-4].

Krav	Udfordring	Strategi
Høj enantiomerisk renhed: > 98% ee	Tilgængelighed af passende enzymer	Modifikation af enzym, f.eks. gennem "directed evolution"
Høj produktkoncentration: f.eks. > 100 kg/m ³	Substrat/produkt inhibering af enzym	In situ produktfjernelse; Kontrolleret substrattillsætning; Modifikation af enzym
Effektiv udnyttelse af enzymer: f.eks. > 10 tons produkt / kg immobiliseret enzym	Omkostninger og stabilitet af enzymer	Immobilisering, stabilisering og genanvendelse af enzymer
Minimal brug af ressourcer og lav miljøpåvirkning	Miljøpåvirkning	Optimal anvendelse af råmaterialer og biprodukter; Minimal brug af miljøskadelige kemikalier og opløsningsmidler

Boks 1. Krav, udfordringer og strategier for biokatalyse i lægemiddelproduktion

Den farmaceutiske industri oplever et stigende pres for at reducere produktionsomkostninger og udviklingstiden for nye lægemidler. Det stiller høje krav til integration af biokatalyse i produktionen, og til at biokatalyse også er økonomisk at-



VIL DU SPARE TID OG PENGE ?

FÅ STYR PÅ KEMIEN PÅ DIN VIRKSOMHED

- KEMI-basen sikrer udarbejdelsen af de lovpligtige arbejdspladsbrugsanvisninger for samtlige kemiske produkter, der anvendes på din virksomhed
- KEMI-basen giver elektronisk adgang til alle virksomhedens arbejdspladsbrugsanvisninger – og automatisk opdatering af sikkerhedsdatabladene

AM-Gruppen A/S - Storegade 31 - 6700 - Esbjerg - www.am-online.dk Tlf. 70 107 701

traktivt ift. andre tilgængelige teknologier på markedet. For at opnå lave produktionsomkostninger skal processen have en høj produktkoncentration (kg produkt/m³ reaktionsvolumen), da det reducerer oprensningsomkostningerne. En høj kostpris for enzymer betyder, at de skal anvendes effektivt (kg produkt/kg enzym). Det er også nødvendigt, at det biokatalytiske processtrin er foreneligt med tidligere og senere kemiske processtrin. En kort udviklingstid for fremstillingsprocessen er meget vigtig tidligt i udviklingsforløbet af lægemidler, mens forbedringer af eksisterende processer giver bedre plads til at anvende ny teknologi, herunder biokatalyse. Tommelfingerregler for krav og løsningsstrategier ved implementering af biokatalytiske processer i lægemiddelproduktion er beskrevet i boks 1.

Teknologier til enzym- og procesforbedringer

Den enorme udvikling inden for bioteknologi har givet effektive værktøjer til at fremstille enzymer med forbedrede egenskaber, herunder øget selektivitet og stabilitet. Måltrettede molekylærbiologiske metoder, såsom "directed evolution" og rational proteinoptimering, har givet nye anvendelsesområder for biokatalyse, og der eksisterer flere eksempler på, hvordan enzymer er blevet "skræddersyet" til en industriel proces [5].

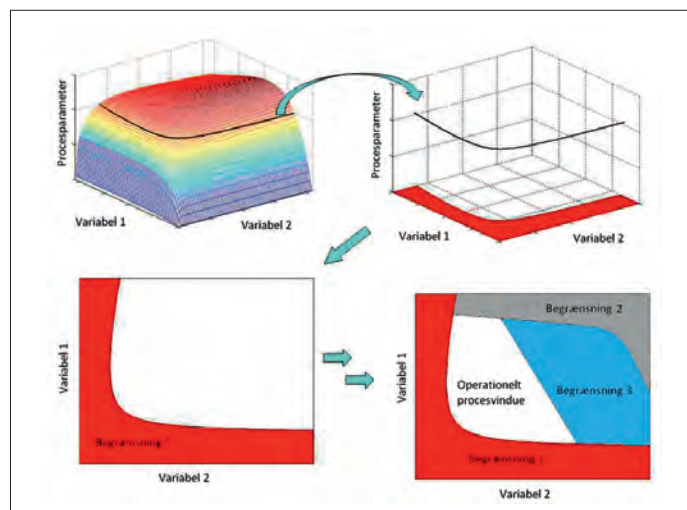
Rekombinant DNA-teknologi kan anvendes til at udtrykke enzymer mere effektivt i en værtsorganisme og giver dermed mulighed for at producere det ønskede enzym i høj koncentration til en lav pris. Teknikker til immobilisering af enzymet giver gode muligheder for at genanvende enzymet og dermed opnå en højere effektivitet og reducerede procesomkostninger [6]. En hyppig udfordring for biokatalytiske processer er, at substratet eller produktet kan inhibere den enzymatiske omdannelse og dermed give lav produktivitet. Metoder til at reducere substrat- eller produktinhibering udgør f.eks. kontrolleret tilsætning af substrat, flerfasesystemer og *in situ* produktfjernelse (ISPR), der ofte også er velegnet til processer med ustabile eller enzymtoksiske produkter [7].

Procesudvikling

Muligheden for at frembringe "skræddersyede" enzymer giver nye anvendelsesområder, men efterlader en række proces-tekniske udfordringer [8]. Ofte er udfordringerne komplekse og multivariate. Det betyder, at den optimale løsning repræsenterer et kompromis mellem forskellige krav. Et rationelt besluningsgrundlag til at udvælge den mest optimale proces kan fås vha. eksisterende værktøjer til at identificere nødvendige krav til procesforhold, herunder procesbetingelser og enzymegenskaber.

Det er ikke en let opgave at identificere det bedste procesdesign. En relativ enkel fremgangsmåde er at anvende økonomiske og tekniske proceskrav og begrænsninger til systematisk at identificere "operationelle procesvinduer", hvilket angiver egnede procesforhold under disse begrænsninger og krav (figur 1). Operationelle procesvinduer kan visualiseres grafisk for udvalgte procesvariable og dermed tydeliggøre mulige procesbetingelser [9]. De operationelle procesvinduer kan både illustrere begrænsninger for processen samt virkningen af gennemførsel af procesændringer og dermed bidrage til en bedre forståelse af processen og muligheder for at forbedre den.

En anden måde at vurdere procesbegrænsninger og de potentielle fordele, der kan opnås ved at fjerne disse, er gennem "regime analyse". Her identificeres de begrænsende procesparametre, f.eks. enzymstabilitet eller produktinhibering, ift. vigtige procesforhold, f.eks. enzymkoncentration eller reaktionstid [10]. Retningslinjer for hvor det er mest relevant at forbedre processen kan findes, når regime analyse kombi-



Figur 1. Identificering af operationelle procesvinduer for udvalgte procesvariable ud fra proceskrav og begrænsninger er et systematisk værktøj til at forstå og optimere biokatalytiske processer [9].

neres med cost-benefit-analyser, hvor omkostningerne for en ændring opvejes mod de fordele der opnås.

Perspektiver for biokatalyse i lægemiddelproduktion

Den farmaceutiske industri vil fortsat søge efter den bedste og billigste måde at producere fremtidige lægemidler på. Biokatalyse vil i stigende grad blive anvendt til lægemiddelproduktion grundet en fremragende selektivitet og miljøvenlige procesbetingelser. Fortsat udvikling på området vil ske på grænsefladen mellem discipliner som kemi, biologi, computervidenskab og processteknologi for at nedbringe produktionsomkostningerne og integrere biokatalytiske og kemiske processtrin. Produktivitetsforbedringer og udviklingen af systematiske værktøjer til at støtte procesudviklingen forventes at spille en afgørende rolle for yderligere industriel implementering af biokatalyse i lægemiddelproduktion.

E-mail-adresse

John M. Woodley: jw@kt.dtu.dk

Referencer

1. A J J Straathof, S Panke and A Schmid. The production of fine chemicals by biotransformations; *Current Opinion in Biotechnology* Vol. 13, 548-556 (2002)
2. A Schmid, F Hollmann, J B Park and B Bühler. The use of enzymes in the chemical industry in Europe; *Current Opinion in Biotechnology* Vol. 13, 359-366 (2002)
3. A Liese, K Seelbach and C Wandrey. *Industrial Biotransformations*. Wiley-VCH, Weinheim (2006)
4. D J Pollard, J M Woodley. Biocatalysis for pharmaceutical intermediates: The future is now; *TRENDS in Biotechnology* Vol.25(2), 66-73 (2007)
5. R J Fox and G W Huisman. Enzyme optimization: moving from blind evolution to statistical exploration of sequence-function space; *TRENDS in Biotechnology* Vol. 26(3), 132-138 (2008)
6. U T Bornscheuer. Immobilizing enzymes: How to create more suitable biocatalysts; *Angewandte Chemie International Edition* Vol. 42, 3336-3337 (2003)
7. J M Woodley, M Bisschops, A J J Straathof and M Ottens. Future directions for in-situ product removal (ISPR); *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* Vol. 83, 121-123 (2008)
8. P Tufvesson, W Fu, J S Jensen, J M Woodley. Process considerations for the scale-up and implementation of biocatalysis; *Food and Bioproducts Processing*, in press (2010)
9. H E M Law, D J Lewis, I McRobbie, J M Woodley. Model visualization for evaluation of biocatalytic processes; *Food and Bioproducts Processing* Vol. 86, 96-103 (2008)
10. H E M Law, C V F Baldwin, B H Chen and J M Woodley. Process limitations in a whole-cell catalysed oxidation: Sensitivity analysis; *Chemical Engineering Science* Vol. 61, 6646-6652 (2006)