

# Biotechnologické aspekty mikrobiálnych transformácií

Ing. JÁN FUSKA, DrSc., Katedra biochemickej technológie CHTF SVŠT, Bratislava

**Kľúčové slová:** biotransformácie, prírodné látky, organické zlúčeniny, farmácia, potravinárstvo, organická chémia

Biotransformácie sú procesy, pri ktorých sa upravuje molekula látky pomocou buniek alebo tkanív živých organizmov alebo v nich obsiahnutých enzýmov, ktoré považujeme v biotransformačných pochodoch za selektívne katalyzátory. Podmienky pri transformáciách sú značne špecifické, šetrné, t. j. nízka teplota, optimálne pH, prítomnosť kyslíka alebo inertná atmosféra. Transformácie môžu prebiehať i v bezvodom prostredí. Použitie dvojfázového systému rozpúšťadiel umožňuje súčasne nakoncentrovanie vznikajúceho metabolitu pri jeho súčasnom oddelení od pôvodného substrátu [1].

Pri technických biotransformáciách sa využívajú prevažne mikrobiálne systémy. Biotransformácie predstavujú moderný a progresívny smer pri príprave cenných a biologicky účinných látok, za výhodných ekonomických podmienok. Mikroorganizmy a v nich prítomné enzýmy vedia z viacerých ekvivalentných skupín v molekule selektívne konvertovať iba jednu, vniesť chiralitu do opticky inaktívnej molekuly. Mikrobiálne systémy sa vyznačujú regionálnou selektivitou i vysokým stupňom stereoselektivity k použitému substrátu i produktu.

Biotransformačné reakcie možno využiť v nasledujúcich odboroch:

a) Vo farmaceutickom priemysle možno pomocou transformačných reakcií upraviť molekulu látok tak, že sa získajú nové látky, účinnejšie a menej toxické. Biotransformáciou možno neaktívny, ekonomicky bezcenný metabolit premeniť na biologicky aktívny a cenovo atraktívny preparát (digitoxin na digoxin) [2]. Vhodnou transformáciou sa zložitá molekula látky zjednoduší a upraví tak, že slúži ako základná surovina na semisyntézu takých derivátov, ktoré majú požadované biologické účinky a nemožno ich pripraviť biosyntézou ani organickou syntézou [3].

b) Široké uplatnenie našli biotransformácie i v potravinárskom priemysle. Jedná sa o úpravy molekúl monosacharidov a disacharidov, premenu dikarbónových kyselín na aminokyseliny [4] alebo potravinársky žiadané kyseliny: jablčnú a vínnu. Eleganťný je štvorstupňový postup biotransformácie D-glukózy na kyselinu L-askorbovú.

c) Atraktívna je aplikácia enzýmov v organickej syntéze, pri ktorej sa kombinuje klasická katalýza pr. cesov s katalýzou enzýmov. Ťažko sú nahraditeľné mikrobiálne transformácie v organických syntézach, kde sa jedná o prípravu látok určitej optickej konfigurácie. Mikroorganizmy vedia selektívne obmeniť R a S formu

v zmesiach, možno ich využiť na delenie zmesí syntézou pripravených D a L aminokyselín [5] alebo na prípravu epimérov [6]. Multienzymové systémy mikroorganizmov sa plne využívajú pri biotransformácii naftalénu na kyselinu salicylovú [7] alebo pri preoxidácii propylénu na propylénoxid [8], vhodný na syntézu makromolekulárnych látok.

d) Ďalšia oblasť, kde si príroda zaviedla do praxe biotransformácie bez nášho vedomia a pomoci, sú transformácie xenobiotík.

Mikroorganizmy sú schopné realizovať všetky typy reakcií, ktoré sa uskutočňujú v tele živočíchov. Sú schopné uskutočniť i mnoho takých reakcií, ktoré sa využívajú v organickej syntéze (tab. 1).

Tabuľka 1. Niektoré typy reakcií, ktoré realizujú mikroorganizmy

Acylácia	Demetylácia S, N, O	Hydroxylácia
Acetylácia	Epimerizácia	Izomerizácia
Amidácia	Epoxidácia	Kondenzácia
Aminácia	Esterifikácia	Metylácia N, S, O
Deaminácia	Fosforylácia	Oxidácia
Dekarboxylácia	Halogenácia	Racemizácia
Dehydrogenácia	Hydratácia	Redukcia
Dimerizácia	Hydrolyza	Transglykozylácia

Biotransformačné reakcie môžeme rozdeliť na priame a nepriame. Priame reakcie sú tie, pri ktorých sa transformuje čistý, izolovaný metabolit alebo zvolená látka. Najjednoduchší je systém, pri ktorom nedochádza k hlbšej zmene v štruktúre použitej molekuly. Jedná sa o zavedenie alebo odstránenie niektorých jednoduchých substituentov v molekule látky ( $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{OH}$ ,  $-\text{CH}_2\text{OH}$ ,  $-\text{COH}$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ), rozštiepenie epoxidového laktónového alebo laktámového kruhu.

Pri priamej biotransformácii možno molekulu látky podrobiť i hlbším premenám. Zložitú molekulu môže mikroorganizmus transformovať na dve samostatné molekuly, schopné trvalej existencie. Takto pripravená molekula (jedna jej časť) sa potom opäť využije pri ďalšej biotransformácii alebo v organickej syntéze na prípravu nových látok. Sem patrí hydrolyza a semisyntéza penicilínov [9], cefalosporínov [10], bleomycínov [11] a ďalších liečiv.



Okrem uvedených reakcií, možno realizovať biotransformácie i v komplexnom prostredí, tj. bez izolácie metabolitu alebo jeho časti do čistej formy. To sú riadené, nepriame biotransformácie. V jednom prípade hovoríme o biotransformácii — modifikácii látok riadenou biosyntézou pomocou prekursorov. V druhom prípade sa jedná o mutasyntézu. Mutáciou pripravené kmene sú schopné produkovať časť molekuly zložitej látky. Ak sa takému kmeňu pridá do média časť požadovanej molekuly alebo molekula podobná, modifikovaná chemickou cestou, vytvorí mikroorganizmus nový metabolit. Takto boli pripravené antibiotiká hybrimycíny [12].

Tabuľka 2. Niektoré významné priemyselne realizované biotransformácie

Substrát	Produkt	Mikroorganizmus
Penicilín G	6 APK	<i>E. coli</i>
6 APK	Ampicilín	<i>B. megaterium</i>
Cefalosporín C	7 ACK	<i>B. megaterium</i>
7 ACK	7 ADCK	<i>B. subtilis</i>
7 ADCK	Cefalexín	<i>Achromobacter</i> sp.
Bleomycín B <sub>2</sub>	Kys. bleomycínová	<i>Fusarium</i> sp.
Daunomycín	Adriamycín	<i>S. coeruleorubidus</i>
Digitoxín	Digoxín	<i>Streptomyces</i> sp.
Zlúčenina S	Hydrokortizón	<i>C. lunata</i>
Hydrokortizón	Prednizolón	<i>Arthrobacter simplex</i>
Fumarát	Aspartát	<i>E. coli</i>
Indol	Tryptofán	<i>E. coli</i>
Fumarát	Jablčnan	<i>B. ammoniagenes</i>
D-glukóza	D-fruktóza	<i>Aerobacter cloacae</i>
		<i>Erwinia</i> sp., <i>Corynebacterium</i> sp.
D-glukóza	Kys. L-askorbová	<i>Pseudomonas putida</i>
Naftalén	Kys. salicylová	<i>Caldwellomyces</i> , <i>Flavobacterium</i>
Propylén	Propylén oxid	

6 APK — 6 aminopenicilánová kyselina, 7 ACK — 7 aminocefalosporánová kyselina, 7 ADCK — 7 aminodeoxycefalosporánová kyselina

Priebeh biotransformačných reakcií je závislý na viacerých faktoroch. Na prvom mieste je to kvalita substrátu. Malá zmena v štruktúre môže zmeniť smer reakcie alebo vôbec zabrániť biotransformácii substrátu. Mikroorganizmy, ktoré transformujú penicilín G, nemenia molekulu penicilínu V. *S. coeruleorubidus* ME 130A4 glykolyzuje karminomycín nie však daunomycín, od ktorého sa líši metylovou skupinou [13]. Významnú úlohu má optická aktivita substrátu. *Fusarium solani* je schopné selektívne transformovať S(+)-glaucin, *Aspergillus flavipes* zasa opačne, iba R(+)-glaucin [14]. Dôležitým faktorom je samotný použitý mikroorganizmus. Ten istý mikroorganizmus je schopný realizovať viaceré transformačné reakcie na rôznych substrátoch. *Cunninghamella blakesleeana* (ATCC 8688a) uskutočňuje N- a O-demetyláciu a hydroxyláciu v rôznych polohách odlišných substrátov. *Cunninghamella elegans* (NRRL 1396) transformuje zasa withaferin A v rôznych polohách [15]. Hodnota pH použitého média ovplyvňuje rast použitého mikroorganizmu ale tiež aktivitu v ňom prítomných enzýmov. Penicilínacyláza pri hodnotách pH vyšších ako 7,0 štiepi molekulu penicilínu na kyselinu 6-aminopenicilánovu a fenylactovú, pri nižšom pH ako 6,0 syntetizuje z kyseliny 6-aminopenicilánovej a vhodného prekursoru nové penicilíny. I teplota počas transformácie ovplyvňuje rast mikroorganizmu, ale aj aktivitu enzýmových systémov. Kvalitatívne zloženie média tiež môže ovplyvniť priebeh transformácie substrátu. *Arthrobacter colchovorum* transformuje kolchicín na 7-deoxykolchicín v prítomnosti dusičnanu amónneho, v jeho neprítomnosti vzniká z kolchicínu 7-deacetylamo-7-oxo-kolchicín [16].

Biotransformácie predstavujú biotechnológie, ktoré majú široké použitie. Sú to procesy progresívne a ekonomicky výhodné.

#### Literatúra

- [1] FUSKA, J., JAKUBOVÁ, A., HALAMA, D., BUČKO, M.: Antibiotiki, 9, 1972, s. 775—778.
- [2] SZELECKÝ, Z., SÓTI, M., HORVÁTH, Gy., ALBERT, K.: Steroids, 38, 1981, s. 11—27.
- [3] ABBOT, B. J.: Adv. Appl. Microbiol., Vol. 20, s. 203—257, Academic Press, New York, 1976.
- [4] CHIBATA, I., TOSA, T., SATO, T.: Appl. Microbiol., 27, 1974, s. 878—885.
- [5] CHIBATA, I., TOSA, T., SATO, T., MORI, T., MATSUO, Y.: in: Fermentation Technology Today (G. Terui, ed.) s. 383—389. Soc. Ferment. Technol., Osaka, 1972.
- [6] IPSEN, J., FUSKA, J., FUSKOVÁ, A., ROSAZZA, J. P.: J. Org. Chem., 47, 1982, s. 3278—3289.
- [7] BARNESLEY, E. A.: Biochim. Biophys. Res. Commun., 73, 1976, s. 1116—1123.
- [8] HOU, T. CH.: in: Microbial transformation of bioactive compounds. Vol. I. (J. P. Rosazza, ed.), s. 81—107, CRC Press, Boca Raton, 1982.
- [9] ABBOT, B. J., FUKUDA, D.: Antimicrob. Agents Chemother., 8, 1975, s. 282—288.
- [10] OKACHI, R., KATO, I., MIYAMURA, Y., NARA, T.: Agric. Biol. Chem., 37, 1973, s. 1953—1957.
- [11] UMEZAWA, H., TAKAHASHI, Y., FUJII, A., SAINO, T., SHIRAI, T., TAKITA, T.: J. Antibiotics, 26, 1973, s. 117—119.
- [12] SHIER, W. T., RINEHART, Jr. K. L., GOTTLIEB, D.: Proc. Natl. Acad. Sci. U. S., 63, 1969, s. 198—203.
- [13] YOSHIMOTO, A., OKI, I., TAKEUCHI, T., UMEZAWA, H.: J. Antibiotics, 33, 1980, s. 1158—1166.
- [14] DAVIS, J. P., TALAAT, R. E.: Appl. Environ. Microbiol., 41, 1981, s. 1243—47.
- [15] FUSKA, J., PROUSEK, J., ROSAZZA, J. P., BUDEŠINSKÝ, M.: Steroids, 40, 1982, s. 157—169.
- [16] ZEITLER, H. J., NIEMER, H.: Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 350, 1969, s. 366—373.

Fuska, J.: Biotechnologické aspekty mikrobiálnych transformácií. Kvas. prům. 31, 1985, č. 7—8, s. 167—168.

Biotransformácie sú biologické procesy katalyzované enzýmami. Predstavujú progresívne a ekonomicky výhodné biotechnológie. Ich priebeh je závislý na použitom substráte, mikroorganizme, médiu a kultivačných podmienkach. Majú široké využitie vo farmaceutickom a potravinárskom priemysle a v organickej syntéze.

Фуска, Я.: Биотехнологические аспекты микробиальных трансформаций. Квас. прум. 31, 1985, № 7—8, стр. 167—168.

Бiotransформации представляют биологические процессы, которые катализуют ферменты. Они представляют прогрессивные и экономически выгодные биотехнологии. Ход биотрансформаций зависит от примененного субстрата, микроорганизма, культуральной жидкости и условий для культивации. Эти процессы можно хорошо использовать в фармацевтической и пищевой промышленности и в органическом синтезе.

Fuska, J.: Biotechnological aspects of microbial transformations. Kvas. prům. 31, 1985, No. 7—8, pp. 167—168.

Biotransformations are biological processes catalyzed by microorganisms. They represent the progressive and economical advantageous biotechnology. Their performance depends on the used substrate, microorganism, medium and conditions of cultivation. They have an extensive exploitation in pharmaceutical and food industry as well as in organic synthesis.

Fuska, J.: Biotechnologische Aspekte der mikrobiellen Transformationen. Kvas. prům. 31, 1985, Nr. 7—8, S. 167—168.

Biotransformationen sind von Enzymen katalysierte biologische Prozesse. Sie stellen progressive und ökonomische vorteilhafte Biotechnologien dar. Ihr Verlauf wird vom benutzten Substrat, vom Mikroorganismus und von den Kultivationsbedingungen abhängig. Sie haben eine breite Anwendung in der Pharmazeutischen- und Nahrungsmittelindustrie, und in der organischen Synthese.