

Enzima mejorada para la producción de metabolitos humanos u otros fármacos

El CSIC ha obtenido una variante proteica de la peroxigenasa natural del hongo *Agrocybe aegerita*, con propiedades mejoradas en su actividad catalítica, y su capacidad de expresarse heterológamente. El mutante ha sido especialmente diseñado para ser aplicado en procesos de hidroxilación aromática, en concreto en la síntesis de 5'-hidroxipropranolol. Se buscan empresas interesadas en el uso de esta enzima en la síntesis de metabolitos y otros tipos de fármacos y sus derivados, bajo licencia de patente.

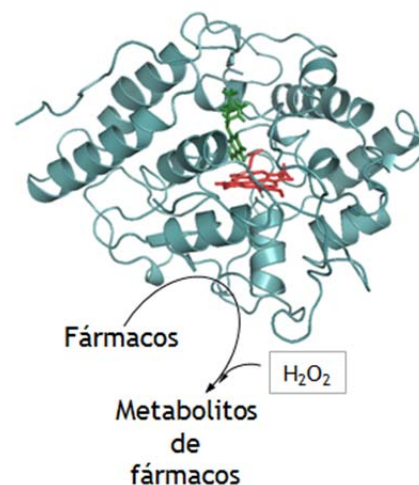
Oferta de licencia de patente y/o de colaboración en I+D

Proceso testado para la producción de metabolitos del propranolol

Los metabolitos humanos de fármacos (*Human drug metabolites*, HDMs) son el resultado del metabolismo de compuestos farmacéuticos, principalmente mediante las enzimas P450s del hígado. Para la industria farmacéutica, es clave la evaluación de la toxicidad, eficacia y actividad de estos metabolitos, pero la síntesis química de los mismos produce rendimientos muy bajos además de resultar harto complicada. Tampoco las enzimas peroxigenasas utilizadas hasta ahora han dado buenos resultados. Sin embargo, la enzima objeto de la invención, ofrece una alternativa mucho más eficaz, a los procesos de síntesis utilizados hasta ahora.

La enzima oxigenasa de esta invención se obtuvo a través de ingeniería genética, partiendo de una peroxigenasa inespecífica silvestre, que en la naturaleza es secretada por el hongo basidiomiceto *A. aegerita*. A la enzima de partida (UPO silvestre) se le aplicó la técnica de "evolución dirigida", la cual permitió incrementar la actividad peroxigenasa (mono-oxigenasa) frente a la actividad peroxidasa, haciéndola ideal para ser utilizada como biocatalizador en procesos de hidroxilación selectiva, evitando la aparición de productos secundarios. Además, los nuevos mutantes obtenidos tienen la capacidad de producirse en levaduras de gran aplicación industrial, como el hongo *Saccharomyces cerevisiae* o *Pichia pastoris*.

Con la nueva enzima obtenida se realizaron ensayos de síntesis de 5'-hidroxipropranolol a partir de propranolol, obteniéndose valores de regioselectividad del 99% para este compuesto y de eficiencia catalítica de dos órdenes de magnitud superiores a los de la UPO silvestre, (alcanzando un valor de $1,3 \times 10^6 \text{ s}^{-1} \text{ M}^{-1}$); aumentando además la afinidad por el propranolol en 5,7 veces. Además la nueva enzima presenta una actividad peroxidasa 11 veces inferior a la UPO silvestre, evitando así la transformación del 5'-hidroxipropranolol en la correspondiente quinona, que da lugar a polímeros indeseados.



Principales innovaciones y ventajas

- La enzima es capaz de producir 5'-hidroxipropranolol, sin la presencia de antioxidantes o cofactores, como ocurre con los métodos enzimáticos usados actualmente.
- El nuevo mutante es capaz de expresarse en *S. cerevisiae* y *P. pastoris* a niveles de hasta 0,2 g/L, aceptables para su aplicación industrial.
- Presenta una elevada termoestabilidad, con un valor de T_{50}^a alrededor de 60°C
- Presenta un número de recambio total (TTN, *total turnover numbers*) 15 veces superior a la UPO silvestre, llegando a los 45.000, que están en el orden las enzimas comerciales.
- La enzima tiene múltiples aplicaciones reacciones regioselectivas de síntesis orgánica que impliquen oxifuncionalización selectiva de C-H, con especial interés en sustratos aromáticos y metabolitos humanos de fármacos.

Estado de la patente

PCT solicitada

Para más información, por favor contacte con

Dra. Sara Junco Corujedo

Instituto de Catálisis y Petroleoquímica del CSIC

Tel.: + 34 - 91 585 46 33

Correo-e: s.junco@csic.es