

TRIỂN VỌNG TỔNG HỢP THUỐC BẰNG PHƯƠNG PHÁP XÚC TÁC ENZYM SINH HỌC

Nguyễn Trung Hiếu

Khoa Công nghệ sinh học, Trường Đại học Nguyễn Tất Thành

Các phân tử thuốc khi được tổng hợp đều có cấu trúc không gian 3 chiều, tuy nhiên với thuốc được tổng hợp hóa học chỉ 1 trong 2 đồng phân của chúng có tác dụng mong muốn trong cải thiện bệnh, đồng phân còn lại và các tạp chất thường gây ra các tác dụng phụ hoặc độc tính không mong muốn. Để giải quyết vấn đề này, các nhà khoa học đã đưa ra phương pháp xúc tác enzym sinh học cho phép tạo ra sản phẩm thuốc ít tạp chất hơn và giảm được đáng kể các đồng phân quang học không mong muốn.

Hạn chế của thuốc được tổng hợp bằng phương pháp hóa học

Cơ thể người và tất cả các sinh vật là một hệ thống sống, được cấu tạo và hoạt động trong một hệ thống không gian 3 chiều. Sự chuyển hóa các phân tử sinh học bằng enzym trong cơ thể và sự tương tác của các phân tử lên tế bào, cơ quan và hệ cơ quan cũng theo nguyên tắc tương thích về cấu trúc không gian, có nghĩa là phải theo cơ chế giống “ổ khóa và chìa khóa”.

Các chất muốn tác động lên các phân tử sinh học hoặc các vị trí đích tác động (thụ thể - receptor) thì phải tương thích về cấu trúc không gian với các thụ thể mà nó sẽ tác động. Các phân tử thuốc khi được tổng hợp đều có cấu trúc không gian 3 chiều (các cấu trúc có đồng phân cấu tạo, cấu dạng, hình học hoặc quang học), thường chỉ 1 trong 2 đồng phân của chúng mới có cấu trúc tương thích thực sự với vị trí đích tác động mong muốn (vị trí mà khi tác động vào sẽ có sự điều chỉnh để cải thiện bệnh), đồng phân còn lại và các tạp chất thường không tương thích sẽ gây ra các tác dụng phụ hoặc độc tính không mong muốn.

Điển hình như thuốc kháng viêm naproxen khá phổ biến trong điều trị viêm. Thuốc được tổng hợp hóa học nên sản phẩm tạo thành gồm 2 đồng phân quang học R và S (thường gọi là hỗn hợp racemic vì chứa 50% đồng phân S và 50% đồng phân R), trong đó đồng phân S - naproxen có hoạt tính kháng viêm cao hơn gấp 28 lần so với đồng phân R - naproxen [1-3]. Tương tự, thuốc salbutamol (hay albuterol)

thường dùng trong điều trị bệnh hen suyễn và phổi tắc nghẽn mạn tính (COPD) cũng được tổng hợp bằng phương pháp này nên trong thành phần cũng có 2 đồng phân S - albuterol và R - albuterol. Đồng phân R - albuterol là chất chủ vận thụ thể β_2 -adrenergic nên làm giảm co thắt cơ trơn phế quản rất tốt cho bệnh hen suyễn và bệnh phổi tắc nghẽn; trong khi đó, đồng phân S - albuterol lại khóa các con đường trao đổi chất, khi tích tụ nhiều sẽ gây viêm phổi, làm bệnh trầm trọng hơn.

Hoặc thuốc Thalidomide (một biệt dược được sản xuất tại Đức, rất nổi tiếng trên thị trường khi được đưa vào sử dụng năm 1957) được mệnh danh là “thần dược” cho phụ nữ mang thai để điều trị những triệu chứng chóng mặt, mất ngủ, buồn nôn trong giai đoạn ốm nghén. Tuy nhiên, kể từ năm 1961, Thalidomide đã bị cấm sản xuất và lưu hành sau khi hàng nghìn bà mẹ sử dụng loại thuốc này sinh ra những đứa trẻ bị dị tật, gọi là “hội chứng chim cánh cụt”. Thuốc tổng hợp cũng tạo ra 2 đồng phân quang học, gồm: R - thalidomide gây cảm giác thoải mái, không buồn nôn, ăn ngon, ngủ ngon; trong khi, đồng phân S - thalidomide lại gây tác hại rất nghiêm trọng, đứa bé sinh ra có hiện tượng các chi không hoặc kém phát triển [4] (hình 1).

Điều cần quan tâm hơn là đối với các thuốc tổng hợp hóa học phải qua nhiều giai đoạn trung gian, quá trình tổng hợp cần sử dụng các chất xúc tác, chất bảo vệ nhóm chức, sản phẩm tạo ra thường chứa nhiều tạp chất không mong muốn; hoặc khi tổng hợp các thuốc mà trong cấu trúc có nhiều carbon bất đối thì số đồng phân quang học tạo



Hình 1. Những đứa trẻ sinh ra từ người mẹ dùng thuốc Thalidomide.

thành sẽ càng khó kiểm soát hơn nhiều (số đồng phân quang học tạo thành nhiều nhất là 2^n , với n là số cacbon bất đối trong cấu trúc) thì việc tách chiết thu hoạt chất tinh khiết quang học lại càng khó khăn hơn. Nếu quá trình chiết xuất để loại bỏ các tạp chất và kiểm nghiệm tạp chất không đầy đủ và hiệu quả thì nguy cơ tiềm ẩn các tác dụng phụ là rất khó lường, do đó thuốc cần phải được thử nghiệm lâm sàng trước khi đưa ra sử dụng.

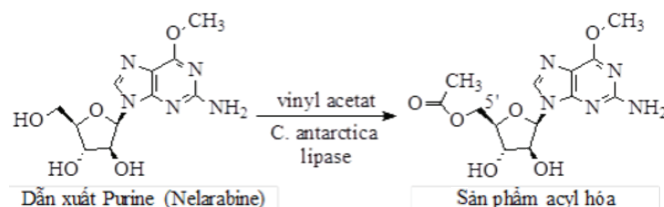
Do vậy, thuốc tinh khiết quang học (chỉ chứa một đồng phân duy nhất) sẽ có hoạt tính cao hơn và an toàn hơn nhiều so với thuốc tổng hợp dạng racemic. Khi sử dụng thuốc tinh khiết quang học, liều thuốc sử dụng có thể được giảm đến 50% so với liều thuốc thông thường, giảm đáng kể các cấu trúc khác không mong muốn có trong thuốc, nhờ vậy làm giảm đáng kể các tác dụng phụ, giảm gánh nặng cho gan khi phải chuyển hóa và đào thải chúng ra khỏi cơ thể. Thuốc có thể được sử dụng kéo dài cho các bệnh mạn tính mà ít gây độc cho bệnh nhân hơn.

Phương pháp xúc tác enzym sinh học - Giải pháp tạo ra sản phẩm thuốc an toàn và hiệu quả

Tổng hợp thuốc bằng phương pháp xúc tác enzym sinh học hay dùng hệ thống enzym trong cơ thể sinh vật sẽ giúp tạo ra sản phẩm ít tạp chất hơn và giảm được đáng kể các đồng phân quang học không mong muốn. Kết quả này có được là do bản chất xúc tác của enzym sinh học khá ưu việt. Enzym có cấu trúc không gian 3 chiều nên trung tâm hoạt động khi xúc tác phản ứng có tính chọn lọc cao theo vị trí nhóm chức và cấu trúc không gian của cơ chất.

Điển hình khi gắn nhóm acyl lên cấu trúc Nelarabine bằng phương pháp hóa học thì phản ứng thường ưu tiên acyl hóa tại nhóm $-NH_2$ là sản phẩm chính, sản phẩm phụ là các nhóm acyl gắn vào các nhóm $-OH$ trên cấu trúc. Nhưng khi acyl hóa bằng lipase (enzym tách từ nấm *Candida*

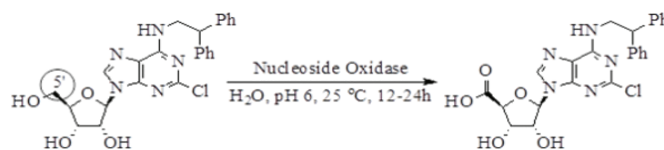
antarctica) thì sự acyl hóa có tính chọn lọc nhóm chức cao, chủ yếu gắn lên nhóm 5'-OH trên cấu trúc, các sản phẩm phụ khác tạo ra không đáng kể (dưới 1%) (hình 2).



Hình 2. Acyl hóa bằng lipase.

Khi thủy phân gốc ester trong hỗn hợp (*R,S*)-naproxen ethyl ester bằng lipase, enzym chỉ thủy phân chọn lọc gốc ester trong đồng phân S-naproxen ethyl ester mà không thủy phân đồng phân còn lại [2, 3, 5]. Hoặc enzyme lipase tách chiết từ *Candida cylindracea* chỉ ester hóa chọn lọc gốc acid trên đồng phân S-ibuprofen trong hỗn hợp (*R,S*)-ibuprofen. Một số nghiên cứu cũng cho thấy nhiều enzyme lipase từ nhiều chủng vi sinh vật (*Aspergillus niger*, *Candida antarctica*) cũng có đặc tính ester hóa chọn lọc trên đồng phân đối quang của (*R,S*)-ibuprofen và (*R,S*)-ketoprofen [6]. Ngoài ra, enzym còn có nhiều ưu điểm như phản ứng được trên các nguồn cơ chất rất đa dạng, giá thành thấp; phản ứng xúc tác diễn ra dễ dàng và hiệu suất cao trong điều kiện áp suất, nhiệt độ và pH bình thường; enzym có thể xúc tác trong môi trường không phải là nước, khi được cố định trên giá thể vẫn có thể xúc tác bình thường và có độ bền cao, có thể tái sử dụng nhiều lần cho các phản ứng xúc tác chuyển hóa.

Điển hình như tổng hợp dẫn xuất 5' - carboxylic acid bằng phương pháp hóa học thường gặp khó khăn do gốc acid được hình thành ngẫu nhiên ở vị trí OH 2', 3' hoặc 5', để phản ứng chỉ tạo dẫn xuất 5' - carboxylic acid cần phải bảo vệ các nhóm OH 2' và 3' trong cấu trúc trước khi thực hiện phản ứng. Nhưng khi tổng hợp dẫn xuất này bằng nucleoside oxidase (chiết xuất từ *Stenotrophomonas maltophilia*) cố định trên giá thể Eupergit - C thì việc tổng hợp trở nên dễ dàng mà không cần phải bảo vệ gốc OH 2' và 3' trong cấu trúc (hình 3).



Hình 3. Tổng hợp dẫn xuất 5' - carboxylic acid bằng nucleoside oxidase.

Enzym lipase trên các vi sinh vật cũng có tác dụng khá đa dạng, như enzym lipase chiết xuất từ *Pseudomonas cepacia* cố định trên polypropylen có thể chuyển hóa nguyên liệu lactone dạng racemic thành chất ức chế HMG - CoA reductase giúp hạ cholesterol máu, sản phẩm tạo thành là đồng phân S có tác dụng. Trên giá thể này enzym có độ bền cao và có thể được tái sử dụng 5 lần.

Enzym lipase từ *Candida rugosa* được cố định trên Accurel tổng hợp thuốc ngừa thai tác động kéo dài Ormeloxifene, cho phép tái sử dụng nhiều lần enzym này mà hoạt tính enzym không thay đổi nhiều, sản phẩm tạo thành chủ yếu là đồng phân (-) Ormeloxifene có độ tinh khiết 95% (hiệu suất chuyển đổi 50%) [7]. Hoặc quy trình chuyển hóa thuốc kháng virus viêm gan siêu vi B và virus HIV (Lamivudine), thuốc thu được tinh khiết quang học đến 99,5%. Enzym cytidine deaminase chiết từ *E. coli* được cố định trên Eupergit - C, có thể tái sử dụng ít nhất 15 lần, hiệu suất quy trình 75%.

Ngoài ra, còn khá nhiều thuốc tinh khiết quang học, các chế phẩm, vitamin, acid amin... đã được nghiên cứu và sử dụng trên thị trường như S - ibuprofen, thuốc chống trầm cảm paroxetine, kháng HIV carbovir, vitamin B3... đã áp dụng phương pháp chuyển hóa bằng enzym sinh học hoặc dùng hệ thống enzym trong vi sinh vật để chuyển hóa và tổng hợp.

Ngày nay, xu hướng phát triển công nghệ xanh và bền vững đang tạo sức ép cho các ngành công nghiệp để tạo ra các giải pháp và sản phẩm an toàn và hiệu quả hơn cho nhu cầu của xã hội. Điều này đã thúc đẩy ngành hóa học hiện đại phải tạo ra các nguồn nguyên liệu mới sạch hơn và an toàn hơn; do đó việc sử dụng các phương pháp xúc tác sinh học đang là xu hướng mới cho nhiều hoạt động nghiên cứu và sản xuất.

Công nghiệp dược phẩm cũng bị thúc đẩy bởi nhu cầu ngày càng tăng cho các loại thuốc an toàn hơn, các loại thuốc mới cho hiệu quả hơn trong điều trị. Với sự phát triển ngoạn mục của sinh học phân tử, công nghệ protein, tin sinh học, công nghệ sinh học đã và đang biến đổi rất lớn quá trình tổng hợp hóa học trong ngành dược phẩm. Người ta có thể khám phá và tìm kiếm nhiều nguồn enzym mới từ tự nhiên, tối ưu hóa các enzym hiện có, cải tiến trên cấu trúc để làm tăng tính ổn định và tính chọn lọc của enzym, cải tiến tạo ra các enzym có tính năng hoàn toàn mới phù hợp với kiểu phản ứng xúc tác và các thông số trong quy mô vận hành công nghiệp.

Đồng thời, chiến lược tìm kiếm các phương pháp và nguồn nguyên liệu mới để làm tăng hiệu quả cố định enzym, tăng độ ổn định và hiệu suất chuyển hóa của enzym trên vật thể mang sẽ cải thiện được nhiều nhược điểm hiện có trong phương pháp cố định enzym hiện tại như: tăng tính ổn định, tăng số lần tái sử dụng enzym, duy trì hoạt tính của enzym và làm giảm sự cản trở về không gian giữa enzym và cơ chất.

Các kết quả trên cho thấy triển vọng rất lớn của phương pháp xúc tác enzym sinh học, hay dùng hệ thống enzym trong cơ thể sinh vật để sản xuất nguyên liệu làm thuốc, giúp tạo ra các viên thuốc an toàn và hiệu quả tốt nhất cho người sử dụng. Tuy nhiên, các phương pháp xúc tác bằng enzym cố định cũng gặp phải một số hạn chế như enzyme sử dụng cần có độ tinh khiết cao; một số enzym khi cố định sự liên kết của giá thể lên các acid amin của enzym có thể làm biến đổi cấu trúc trung tâm hoạt động của enzym; sự liên kết của enzyme lên chất mang sẽ làm cản trở sự tiếp xúc giữa enzym và cơ chất, dẫn đến làm giảm hoạt tính của enzym cố định so với enzyme tự do.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- [1] Walter F. Kean, et al. (1989), "Effect of R and S enantiomers of naproxen on aggregation and thromboxane production in human platelets", *Journal of Pharmaceutical Sciences*, **78**, pp.324-327.
- [2] Saeedeh L. Gilani, et al. (2018), "Enantioselective synthesis of (S)-naproxen using immobilized lipase on chitosan beads", *Chirality*, **29**, pp.304-314.
- [3] J. Xin, et al. (2000), "Improvement of the enantioselectivity of lipase-catalyzed naproxen ester hydrolysis in organic solvent", *Enzyme and Microbial Technology*, **26**, pp.137-141.
- [4] Irene M. Ghobrial, S. Vincent Rajkumar (2003), "Management of Thalidomide Toxicity", *Journal of Supportive Oncology*, **1**, pp.194-205.
- [5] Lucia Steenkamp, Dean Brady (2003), "Screening of commercial enzymes for the enantioselective hydrolysis of R,S-naproxen ester", *Enzyme and Microbial Technology*, **32**, pp.472-477.
- [6] Patrícia O. Carvalho, et al. (2006), "Enzymatic resolution of (R,S)-ibuprofen and (R,S)-ketoprofen by microbial lipases from native and commercial sources", *Brazilian Journal of Microbiology*, **37**, pp.329-337.
- [7] Søren V. Lehmann, et al. (2000), "Enzymatic resolution to (-)-ormeloxifene intermediates from their racemates using immobilized *Candida rugosa* lipase", *Chirality*, **12**, pp.568-573.