

KJ2900 BACHELORPROSJEKT I KJEMI

---

# Syntese av atenolol og metoprolol med hensyn på miljø og pasient

---

Emilie Lileng Ottesen

Veileder: Elisabeth Egholm Jacobsen

30. april 2021



NTNU

Kunnskap for en bedre verden

Institutt for Kjemi

Fakultet for naturvitenskap

Norges teknisk-naturvitenskapelige universitet

## Sammendrag

For å besvare problemstillingen gitt i denne oppgaven, er det brukt litteratursøk til å finne ut hvordan enzymkatalyserte reaksjoner kan være et godt hjelpemiddel for fremtidens produksjon av rasemiske legemidler. Det blir først beskrevet dagens utfordringer med høyt blodtrykk og  $\beta$ -blokkere som er brukt for å behandle det. Deretter presenteres rasemiske syntesemetoder av  $\beta$ -blokkerene atenolol og metoprolol. Det blir så vist syntesemetoder ved bruk av enzymkatalysator som gir stor enantioselektivitet, og det fokuseres på hvordan dette kan være nyttig for syntese av kirale legemidler. Videre fokuseres det på hvordan bruk enzymer som katalysator er hensiktsmessig fra et miljøvennlig ståsted. Etersom rasemiske legemidler ofte gir bivirkninger, blir enzymkatalyse også diskutert fra et perspektiv som tar hensyn til fordelene pasienten opplever.

## Innhold

|  |           |
|--|-----------|
| <b>Sammendrag</b>  | <b>2</b>  |
| <b>1 Introduksjon</b>                                    | <b>4</b>  |
| <b>2 Teori</b>   | <b>5</b>  |
| 2.1 Høyt blodtrykk . . . . .                             | 5         |
| 2.2 Adrenerge reseptorer . . . . .                       | 6         |
| 2.3 Agonister, antagonist og $\beta$ -blokkere . . . . . | 6         |
| 2.4 Atenolol og metoprolol . . . . .                     | 7         |
| 2.5 Syntese av atenolol . . . . .                        | 7         |
| 2.6 Syntese av metoprolol . . . . .                      | 9         |
| 2.7 Syntese av kirale legemidler . . . . .               | 9         |
| 2.8 Miljøvennlig syntese . . . . .                       | 10        |
| 2.9 Enzymkatalysert syntese . . . . .                    | 11        |
| 2.10 Asymmetrisk syntese ved bruk av enzym . . . . .     | 12        |
| <b>3 Diskusjon</b>                                       | <b>14</b> |
| <b>4 Konklusjon</b>                                      | <b>17</b> |

## 1 Introduksjon

Levealderen blant jordas befolkning har gradvis økt med årene, og denne trenden ser ikke ut til å stoppe. Risikoen for hjerte- og karsykdommer øker med alderen, men dødsfall som følge av hjerte- og karsykdommer har de siste årene sunket.<sup>[1]</sup> Slike sykdommer kan forekomme av livsstil eller genetiske faktorer. I Norge er det 800 000 mennesker som medisineres for høyt blodtrykk, som er en risikofaktor for å utvikle hjerte- og karsykdommer.<sup>[2]</sup> Høyt blodtrykk kan senkes ved endring i livsstil, men for noen er bruk av medisiner og  $\beta$ -blokkere et nyttig hjelpemiddel.<sup>[3]</sup>

Ettersom det er mange mennesker med høyt blodtrykk og dette antallet med stor sannsynlighet vil øke i fremtiden som en følge av økt levealder, er det viktig med gode syntesemetoder av gode legemidler. To  $\beta$ -blokkere som selges i Norge er atenolol og metoprolol, og av disse er det metoprolol som brukes av flest personer.<sup>[4]</sup>

Legemidler har ofte bivirkninger, og  $\beta$ -blokkere er ikke noe unntak her. De aller fleste  $\beta$ -blokkere selges som rasemat. Den generelle trenden for  $\beta$ -blokkere er at *S*-enantiomer er den aktive, mens *R*-enantiomer er den inaktive og den som ofte bringer med seg bivirkninger. Metoprolol og atenolol har bivirkninger som kvalme, diaré og lavere puls.<sup>[5;6]</sup> Å syntetisere  $\beta$ -blokkere med kun aktiv enantiomer vil gi en bedre opplevelse for pasient da det vil gi færre bivirkninger.

I legemiddelindustrien produseres det store mengder avfall, og opp til 80% av dette avfallet kommer fra løsningsmidler.<sup>[7]</sup> Avfall medfører risiko for miljø, men også for mennesker. Å finne nye syntesemetoder som genererer så lite avfall som mulig er viktig. I tillegg vil det være fordelaktivt å finne syntesemetoder hvor farlige løsningsmidler kan byttes ut med tryggere og mindre giftige alternativer.

Å bruke miljøvennlige syntesemetoder som også forbedrer pasientopplevelsen er viktig. Når det gjelder atenolol og metoprolol syntetiseres de i dag med løsningsmidler som kan ha negativ effekt på miljø, og metodene gir et rasemisk produkt. Problemstillingen denne oppgaven tar for seg er derfor syntese av atenolol og metoprolol med hensyn på miljø og pasient.

Det fokuseres på hvordan de enzymkatalyserte syntesemetodene kan forbedre dagens legemiddelproduksjon. Det gjøres ved å først gå inn på syntesemetodene som brukes, hvorfor det er viktig med miljøvennlige syntesemetoder, og deretter hvilke fordeler det kan være med å syntetisere rene enantiomerer som virkestoff i legemidler. Enzymkatalyserte synteser av atenolol og metoprolol blir så vist, før diskusjonen tar for seg

om et bytte til enzymkatalyserte reaksjoner kan være hensiktsmessig. Oppgaven fokuserer ikke på hvordan bivirkningene oppstår eller hvordan stoffene spesifikt brytes ned i kroppen. Det fokuseres heller ikke på hvordan legemidlene bindes til reseptor.

## 2 Teori

### 2.1 Høyt blodtrykk

I 2018 var det omtrent 10 000 nordmenn som døde av hjerte- og karsykdom. Det er den vanligste dødsårsaken etter kreft i Norge, men de siste årene har dødsfall som følge av hjerte- og karsykdom sunket kraftig.<sup>[1]</sup> Det er derfor flere som lever med hjerte- og karsykdommer i dag enn før. Mye av denne endringen kan komme av at det er et mer bevisst forhold til livsstil og helse i befolkningen, samt flere legemidler og behandlinger tilgjengelig dersom hjerte- og karsykdom inntreffer. Å leve med høyt blodtrykk øker risiko for hjerte- og karsykdom, og derfor vil det å senke blodtrykket i befolkningen redusere antall forekomster av hjerte- og karsykdom.<sup>[8;9]</sup>

Høyt blodtrykk, også kalt hypertensjon, er betegnet som systolisk blodtrykk over 140 mmHg, eller diastolisk blodtrykk over 90 mmHg. Det er ikke i seg selv en sykdom, men det kan føre til flere lidelser og skader på blodårer. Å ha høyt blodtrykk øker risiko for sykdommer som demens, nyresvikt, hjertesvikt, hjerteinfarkt og hjerneslag. Årsakene til høyt blodtrykk er mange, og risikoen øker med alder. Arv, kosthold, livsstil og stress er faktorer som påvirker blodtrykket. Selv om endring i livsstil kan være med på å senke blodtrykket, er det for noen nødvendig med medisiner.<sup>[3]</sup> Medisinsk behandling av høyt blodtrykk kan redusere risikoen for sykdommene som høyt blodtrykk medfører.<sup>[2]</sup>

I 2015 var det 1,13 milliarder mennesker på verdensbasis med høyt blodtrykk. Det er en økning på 90% fra 1975. Denne økningen kommer av at populasjonen eldes, og økt alder medfører ofte høyere blodtrykk. I de vestlige landene derimot, minker antall personer med høyt blodtrykk.<sup>[10]</sup> Dette gjelder også i Norge. Et forbedret kosthold med tilgang på grønnsaker og frukt året rundt og mindre salt kan være medvirkende årsaker til denne positive utviklingen. Eldre mennesker med høyt blodtrykk blir gjerne medisineret, noe som også er med på å senke andelen med høyt blodtrykk. Det er i tillegg ressurser og behandling tilgjengelig for de som oppdager tidlig at de har høyt blodtrykk.<sup>[11]</sup> I Norge i dag er det mer enn 800 000 mennesker som medisineres for høyt blodtrykk. En type legemiddel som brukes for å senke blodtrykket er  $\beta$ -blokkere.<sup>[2]</sup>

I Norge er det mangelfull oversikt over bruk av legemidler for pasienter med hjerte- og karsykdommer. I 2017 utga FHI en artikkel med navn *Bruk av legemidler blant pasienter utskrevet fra sykehus med hjerte- og karsykdom* som tar for seg hva slags legemidler pasienter som hadde ulike hjerte- og karsykdommer fikk utskrevet 90 dager etter sykehusbesøk. Mange av pasientene hadde bi-diagnoser som høyt blodtrykk og diabetes. Av pasientene som fikk akutt hjerteinfarkt, fikk 79,9% av kvinnene og 76,9% av mennene i aldersgruppen 35-75 år betablokkere etter sykehusbesøket. Blant pasienter i aldersgruppen 75-85 år fikk 77,7% av kvinnene og 77,8% av mennene  $\beta$ -blokkere etter hjerteinfarkt. Disse ble ofte gitt i kombinasjon med andre legemidler. Bruk av legemidler etter hjerte- og karsykdom har vært og er viktig for overlevelse etter sykdom og har hjulpet til med å redusere dødeligheten.<sup>[12]</sup>

## 2.2 Adrenerge reseptorer

Adrenerge reseptorer tilhører gruppen G-proteinkoblede reseptorer (GPCR) og binder katekolaminer, som adrenalin og noradrenalin. Det er hittil funnet ni typer adrenerge reseptorer i kroppen. Hver av de følgende reseptorene har tre undergrupper hver;  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ . Reseptorene er plassert i cellemembranen, består av syv transmembrane helikser og er bundet til en G-protein enhet. G-proteinet består av tre subenheter med navn  $G_\alpha$ ,  $G_\beta$  og  $G_\gamma$ .  $\beta_1$ -adrenerg reseptor ( $\beta_1$ AR) sitter hovedsakelig i membranen på celler i hjertemusklaturen og regulerer prosesser som omhandler hjertet.  $\beta_1$ AR består av syv transmembrane  $\alpha$ -helikser med karboksylterminalen på innsiden av cellemembranen.<sup>[13]</sup>

Når adrenalin bindes til  $\beta_1$ AR vil  $G_\alpha$  enheten løsne fra G-proteinet og guanosindifosfat (GDP) dissosierer fra  $G_\alpha$ . Guanosintrifosfat (GTP) fra cytosol bindes så til  $G_\alpha$ -enheten som støter på adenylsyklase og aktiverer denne. Adenylsyklase omdanner adenintrifosfat (ATP) til syklisk adenylyl monofosfat (cAMP). En opphopning av cAMP fører til aktivering av proteinkinase A (PKA) som videre skaper den cellulære responsen til adrenalin.<sup>[14]</sup>

## 2.3 Agonister, antagonist og $\beta$ -blokkere

Agonister er molekyler som skaper den naturlige reaksjonen til den adrenerge reseptoren, uansett om agonisten er produsert i kroppen eller syntetisk. Adrenalin er agonisten for  $\beta_1$ AR som produseres i kroppen. Reseptorer har ulik sensitivitet ovenfor agonistene, og syntetiske agonister kan gi en kraftigere reaksjon enn for eksempel

adrenalin.<sup>[15]</sup> Antagonister er molekyler som binder seg til reseptoren og derfor forhindrer agonister i å binde seg. De vil i tillegg forhindre den cellulære responsen en agonist ville ha forårsaket.<sup>[16]</sup>

$\beta$ -blokkere er legemidler som blokkerer  $\beta$ -adrenerge reseptorer. De er  $\beta$ -antagonister og forhindrer derfor den normale responsen dersom adrenalin hadde bundet seg til  $\beta$ -reseptoren. Det finnes ulike  $\beta$ -blokkere hvor noen virker spesifikt på  $\beta_1$ - eller  $\beta_2$ -reseptor og noen har ikke spesifisitet ovenfor verken  $\beta_1$ - eller  $\beta_2$ -reseptor. Ved å bruke slike medisiner, vil det være mulig å forhindre symptomer på ulike lidelser.

$\beta_1$ -blokkere virker på  $\beta_1$ AR. De er altså  $\beta_1$ -antagonister.  $\beta_1$ -blokkere brukes som legemidler mot høyt blodtrykk, hjerteinfarkt, hjertekrampe, hjerterytmeforstyrrelse og hjertesvikt. For å lindre symptomene, senker legemidlene blodtrykket, stabiliserer hjerterytmen og reduserer hjertets arbeid.<sup>[17]</sup>

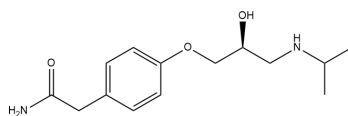
## 2.4 Atenolol og metoprolol

Atenolol og metoprolol er  $\beta_1$ -blokkere, og begge har en *R*-enantiomer og en *S*-enantiomer hvor speilbildene ikke kan overlappe. Både atenolol og metoprolol har ett kiral senter som blir navngitt etter hvordan prioriterte grupper står. En rekkefølge som går med klokka, får *R*-konfigurasjon, mens rekkefølgen mot klokka gir *S*-konfigurasjon.<sup>[18]</sup>

Slik som i de aller fleste rasemiske legemidler, er det kun den ene enantiomeren som gir ønsket medisinsk effekt. For de fleste  $\beta$ -blokkere er *S*-enantiomer den som har best effekt som  $\beta$ -blokker. Atenolol og metoprolol følger denne trenden. Ofte vil *R*-enantiomer kunne ha uønskede bivirkninger som for eksempel lavere puls, diaré og kvalme for (*R*)-atenolol.<sup>[5;6]</sup> Evnen (*S*)-atenolol har som  $\beta_1$ -blokker er 50-500 ganger bedre enn (*R*)-atenolol.<sup>[19]</sup> Vanlige bivirkninger for (*R*)-metoprolol er blant annet svimmelhet, trøtthet, depresjon og diaré.<sup>[20]</sup> (*S*)-metoprolol er vist å ha 250 ganger større virkning som  $\beta$ -blokker enn (*R*)-metoprolol har, og å kun bruke (*S*)-metoprolol har dobbelt så god effekt som (*RS*)-metoprolol.<sup>[6]</sup>

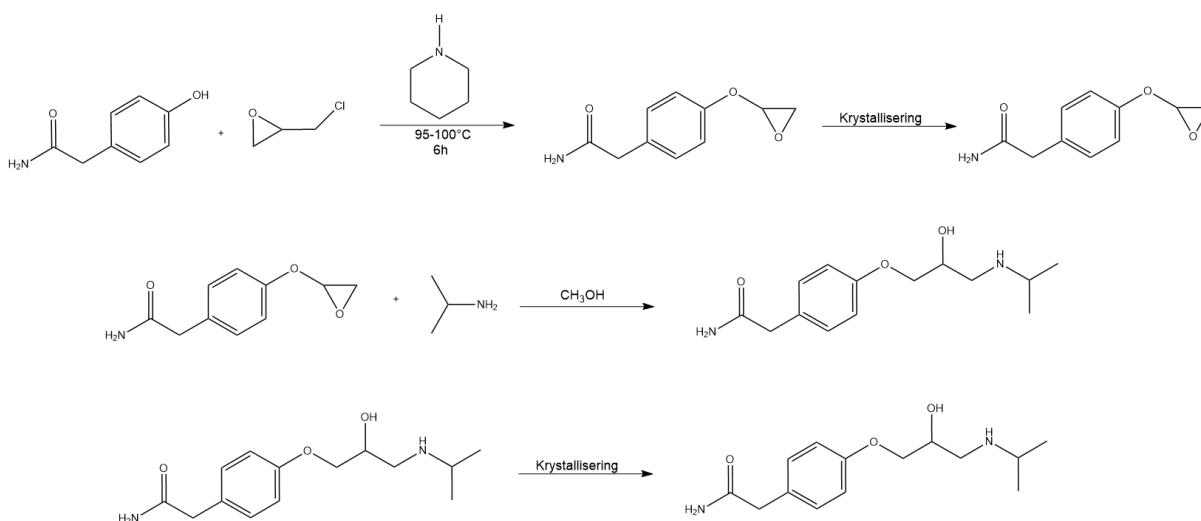
## 2.5 Syntese av atenolol

Atenolol (se figur 2.1) er en  $\beta_1$ -antagonist som brukes for medisinerings av blant annet høyt blodtrykk. Atenolol selges rasemisk som Mylan®, og i 2019 var det omtrent 17 500 brukere av dette legemiddelet i Norge.<sup>[4;21]</sup>



**Figur 2.1:** Strukturen til (*S*)-atenolol.

I artikkelen av Akisanya et al. er det beskrevet en syntesemetode for (*RS*)-atenolol i industrien. Metoden er vist skjematisk i skjema 1 og bruker utgangsstoffet 2-(4-hydroksyfenyl)acetamide som reagerer med epiklorhydrin, og piperidin brukes som katalysator. Løsningen røres i 6 timer ved 95-100°C. 1-(4-carboxymetylphenoksy)-2,3-epoksy-propan dannes, som videre blir krystallisert før det tilsettes isopropylamin. Denne reaksjonen skjer i løsningsmiddelet metanol og varmes til kokepunkt. Atenolol destilleres da ut og krystalliseres til ferdig produkt, (*RS*)-2-(4-[2-Hydroxy-3-(propan-2-ylamino)propoxy]phenyl)acetamide, markedsført som atenolol.<sup>[22]</sup>

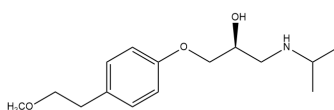


**Skjema 1:** Syntese av rasemisk atenolol beskrevet av Akisanya et al.<sup>[22]</sup>



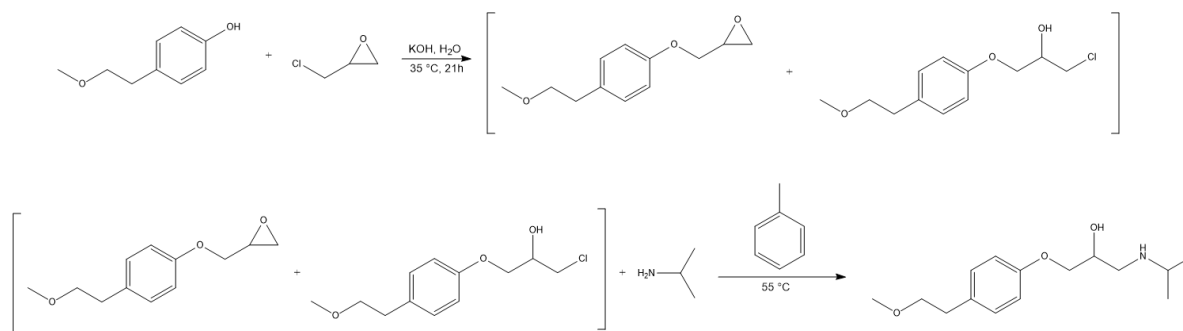
## 2.6 Syntese av metoprolol

Metoprolol (figur 2.2) brukes også som  $\beta_1$ -antagonist. I 2014 var det på 14.plass på listen over de 15 mest brukte virkestoff i reseptbelagte legemidler.<sup>[23]</sup> Fem år senere, i 2019, er ikke metoprolol lenger å finne på denne listen lenger.<sup>[1]</sup> Metoprolol selges i Norge under flere ulike navn både i tablettform, som injeksjonsvæske og som miks-tur.<sup>[24]</sup> I 2020 var det omtrent 288 000 personer som brukte legemiddelet metoprolol i Norge.



Figur 2.2: Strukturen til (S)-metoprolol

Syntese av (RS)-metoprolol er beskrevet av Aguliard og Lladó i patenten til metoprolol og er vist i skjema 2. Syntesen begynner med utgangsstoffet 4-(2-metoksyetyl)fenol som reagerer med epiklorhydrin i basisk løsning over 21 timer ved 35°C. Resultatet av denne reaksjonen reageres så med isopropylamin ved 55°C i toluen. Dette gir (RS)-1-(isopropyl-amino)-3-[p-(2-metoksyetyl)phenoxy]-2-propanol, og er markedsført som metoprolol.<sup>[25]</sup>



Skjema 2: Syntese av rasemisk metoprolol som beskrevet i patenten.<sup>[25]</sup>

## 2.7 Syntese av kirale legemidler

I symmetriske omgivelser vil kirale molekyler oppføre seg likt, utenom evnen til å dreie planpolarisert lys, men kroppen er ikke symmetrisk.<sup>[26]</sup> Alt biologisk liv er kiralt. Kirale molekyler har minst ett asymmetrisk senter, og som oftest er dette karbon. Proteiner, karbohydrater, nukleosider og hormoner er alle kirale molekyler, og finnes i kun den ene enantiomeren i kroppen. På grunn av dette vil kirale legemidler kunne

virke ulikt på kroppen ut fra hvilken enantiomer som brukes.<sup>[27]</sup> Virkningene i kroppen kan skape positiv, negativ eller ingen respons. Enantiomerer av samme forbindelse vil også brytes ned ulikt i kroppen.<sup>[28]</sup>

Av enantiomerene er eutomerer den biologisk aktive, eller har høyere farmakologisk aktivitet. Enantiomerer som er mindre aktiv, ikke aktiv eller har negativ effekt kalles distomerer, og den regnes ofte som en urenheter. Den tredimensjonale konfigurasjonen til biologiske molekyler kan gi oss en forklaring på hvorfor enantiomerene gir ulik effekt når de interagerer med biologiske reseptorer.<sup>[27]</sup> Ettersom kroppen, protiner og enzymer er asymmetriske, vil eutomerer og distomerer binde seg ulikt i kroppen.<sup>[29]</sup>

Av legemidler som selges er det omtrent 56% av dem som er kirale, og 88% av disse selges som rasemat.<sup>[29]</sup> Problemene ved salg av rasemiske legemidler blir ofte sett bort fra da det er vanskelig å separere enantiomerene.<sup>[28]</sup>  $\beta$ -blokkere er kirale legemidler som har ett kiralt senter, og de har en eutomer og en distomer. Mange  $\beta$ -blokkere selges som rasemat og har ofte negative bivirkninger. Enantiomerene vil ofte følge ulike metabolske spor i kroppen, samt gi ulik respons.

Å syntetisere legemidler uten isomere starttilstander leder til en 50/50 blanding av enantiomerene. For å forhindre dette kan startmaterialene som benyttes bestå av kirale reagenser og katalysatorer. Det er også mulig å separere enantiomerene med ulike metoder, som for eksempel kromatografi. Enantiomerene som har stor forskjell i hvordan de reagerer med kroppen er de som er viktigst å få syntetisert som rene enantiomere. Bruk av slike legemidler vil gi færre bivirkninger.<sup>[26]</sup>

## 2.8 Miljøvennlig syntese

Bærekraft har blitt viktigere i syntese av ulike legemidler med årene. I boken *Green Chemistry: Theory and Practice* fra 1998 av Anastas og Warner definerer de grønn kjemi som "(...) bruken av en rekke prinsipper som reduserer eller eliminerer bruken eller produksjon av farlige substanser i design, produksjon eller bruk av kjemiske produkter".<sup>[30]</sup> Det er gitt 12 prinsipper for grønnere kjemi. Tre av disse prinsippene er at 1) det er bedre å forhindre avfall enn å håndtere og behandle det etter bruk, 2) energiforbruk burde optimaliseres med hensyn på miljø og økonomisk påvirkning og burde minimeres, og 3) katalytiske reagenser burde være så selektive som mulig og er bedre enn støkiometriske reagenser.<sup>[30]</sup>

Mange syntesemetoder benytter sterke kjemikalier, høye temperaturer og produserer store mengder avfall og biprodukt som har innvirkning på naturen. Fokus på å senke

disse faktorene i syntese av legemidler har derfor vært viktig de siste årene. Det er estimert at legemiddelindustrien produserer 25-100 kg avfall per kg ferdig legemiddel.<sup>[7]</sup>

Løsningsmidler er vanskelige å unngå når legemidler syntetiseres. Det er derfor viktig å bruke så miljøvennlige løsningsmidler som mulig og unngå de som er giftige for mennesker og natur. I mange biokatalytiske reaksjoner kan vann brukes som løsningsmiddel, og det virker godt i mange varierte synteser.<sup>[7:31]</sup>

Mengden avfall/biprodukt har gått betraktelig ned for flere legemidler. Når legemiddelet sertralin (Zoloft®) først ble produsert i storskala i 1986, ble det brukt fem løsningsmidler, deriblant heksan som er et nevrotoksin. Produksjonen brukte 979 liter løsningsmiddel per kilo ferdig legemiddel. Syntesen ble utviklet og forbedret, og løsningsmidlene som brukes nå er kun etanol og etylacetat. Mengden brukte løsningsmidler er redusert til 256 liter per kilo ferdig legemiddel. Sertralin er et kiralt legemiddel med to kirale sentre, og å kun syntetisere den nødvendige diastereomeren, eller gjenbruke den inaktive, er derfor også viktig for å optimalisere produksjon.<sup>[7]</sup>

## 2.9 Enzymkatalysert syntese

Et enzym er en biokatalysator som øker reaksjonshastigheten til kjemiske reaksjoner uten selv å bli brukt opp. Dette gjøres ved å senke aktiveringsenergien som er nødvendig for at reaksjonen skal gå.<sup>[14]</sup> Enzymer trenger ikke høye temperaturer og ekstreme pH verdier. De virker ofte best ved 20-40°C og pH mellom 5 og 8. De er i tillegg veldig effektive katalysatorer med reaksjonshastigheter på  $10^8$ - $10^{10}$  ganger så raskt som tilsvarende reaksjoner uten katalysator, og dette er mye høyere enn hva kjemiske katalysatorer kan få til.<sup>[32]</sup>

Ved syntese av flere ulike organiske molekyler har enzymkatalyse vist seg å være konkurransedyktig, og i noen tilfeller vesentlig bedre, enn de klassiske syntesemetodene. Det ble tidligere antatt at enzymer kun hadde et begrenset intervall med substrater de kunne katalysere og at det var flere begrensende faktorer når det gjaldt reaksjoner. Etter at flere enzymer har blitt oppdaget og måter å lage tilpassede enzymer på har kommet på banen, har ulempene med enzymkatalyse blitt færre og færre.<sup>[33]</sup>

Enzymer er proteiner med tredimensjonal struktur og et aktivt sete som binder kun selekterte substrater. Dette gir enzymkatalysatorene stor spesifisitet. Enzymer er laget av L-aminosyrer som gjør dem asymmetriske. Dette gir stor stereoselektivitet, og de kan derfor enkelt syntetisere den enantiomere man ønsker. Asymmetriske reaksjoner

gir ofte enantiomert overskudd på >99%. Enantiomert overskudd vil si absoluttdifferansen mellom molfrasjonene til *R*-enantiomer og *S*-enantiomer.<sup>[32;33]</sup>

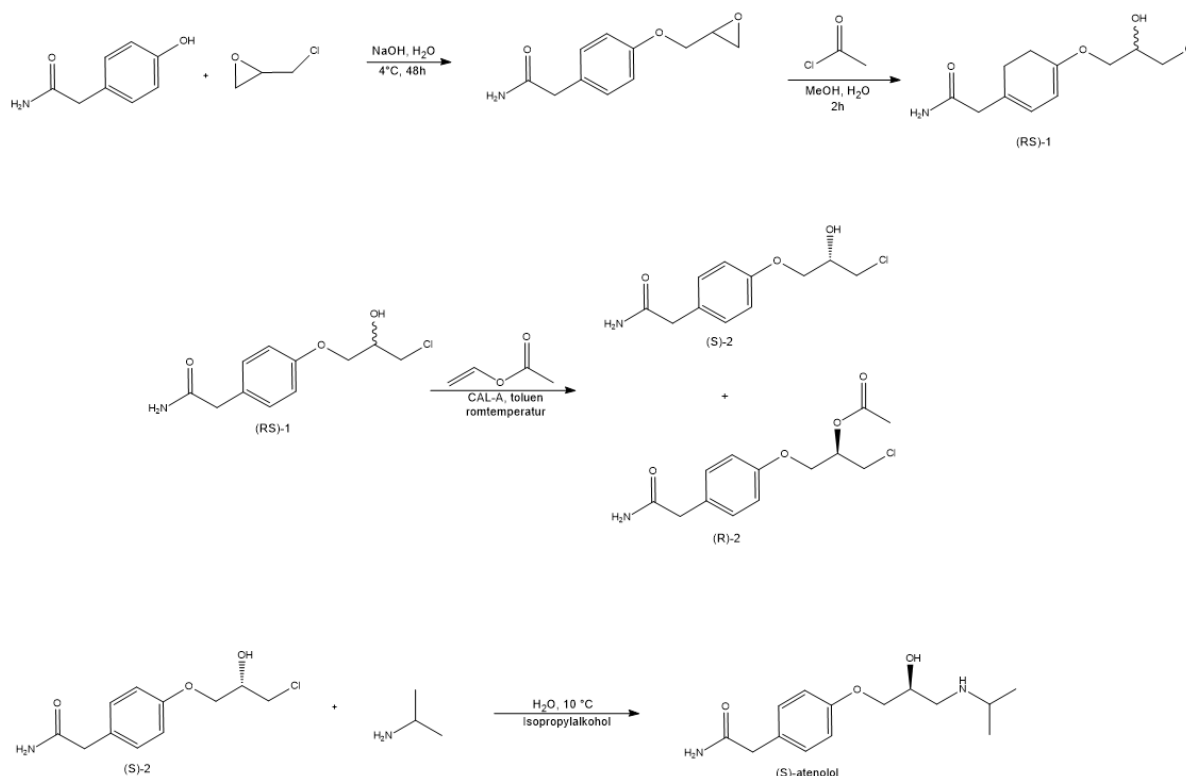
## 2.10 Asymmetrisk syntese ved bruk av enzym

Å syntetisere forbindelser med kun den ønskede enantiomeren kan gjennomføres på ulike måter. Syntesen kan begynne med et allerede symmetrisk miljø slik at de syntetiserte forbindelsene kun blir de ønskede enantiomerene. En rasemisk blanding kan separeres ved å feste ulike grupper på de ulike enantiomerene og dermed skille dem. Det er også mulig å lage rene enantiomere ved å konvertere den uønskede enantiomeren til den ønskede ved asymmetrisk syntese.<sup>[34]</sup>

Lipaser er enzymer som katalyserer reaksjonen hvor fett hydrolyseres. Lipaser som produseres av gjærsoppslekten *Candida* er mye brukt som biokatalysatorer. Gjærsoppen *Candida antartica* produserer to enzymer, lipase A og lipase B (CAL-A og CAL-B). CAL-B er mye brukt som biokatalysator i ulike organiske reaksjoner, men CAL-A har mange spesielle egenskaper selvom det ikke er vist like mye interesse for denne. Syntese ved bruk av lipase gir et teoretisk utbytte på 50%.<sup>[34;35]</sup>

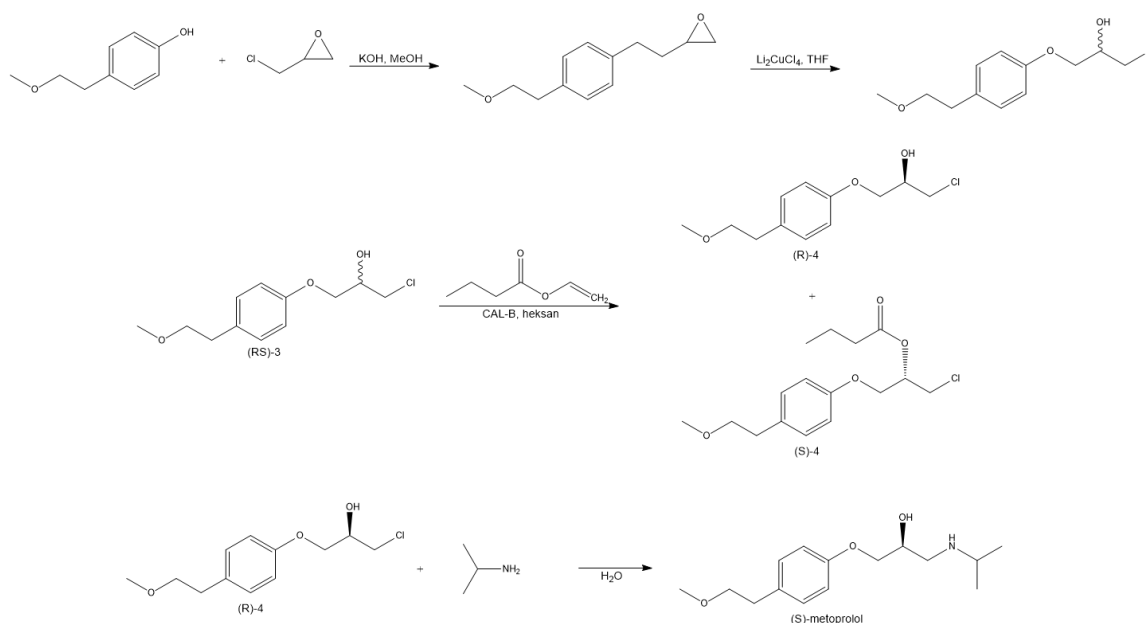
I artikkelen av Dwivedee et. al.<sup>[19]</sup> er det syntetisert (S)-atenolol ved bruk av CAL-A. Syntesen av forløperne til atenolol skjer i en vandig løsning. Det ble gjort forsøk ved ulike temperaturer og med ulike lipaser. Optimum for temperatur ved enzymkatalysen ble funnet ved 30°C, og lipasen som ga best resultat var CAL-A. Syntesen av atenolol er vist i skjema 3 og begynner med utgangsstoffet 2-(4-hydroksyfenyl)acetamid som reagerer med epiklorhydrin i vann ved 4°C i 48 timer. Produktet reagerer videre med acetylklorid i vann og metanol og danner da (RS)-2-(4-(3-kloro-2-hydroksypropoksy)-fenyl)acetamid ((RS)-1).<sup>[19]</sup>

(RS)-1 er en rasemisk blanding, og ved bruk av CAL-A, kan enantiomerene separeres. (RS)-1 ble løst i saltet [EMIM]BF<sub>4</sub>, acyldonoren var vinylacetat og dette ble blandet med toluen og reagert med CAL-A. Denne reaksjonen ga produktene (S)-2 og (R)-2. Videre ble (S)-2 reagert med isopropylamin i vann, og dette ga (S)-atenolol.<sup>[19]</sup>



**Skjema 3:** Syntese av enantiomert ren atenolol ved bruk av enzymet CAL-A<sup>[19]</sup>

Syntese av ren (S)-metoprolol er vist i skjema 4 og ble gjort i masteroppgaven til Bøckmann<sup>[36]</sup> hvor enzymet CAL-B ble brukt. Utgangsstoffet som ble brukt var 4-(2-metoksyetyl)fenol. Dette ble reagert med epiklorhydrin i metanol og basen kaliumhydroksid. Ringen fra epiklorhydrin åpnes ved å reagere stoffet med Li<sub>2</sub>CuCl<sub>4</sub> i tetrahydrofuran (THF). Dette gir (RS)-1-klor-3-(4-(2-metoksyetyl)fenoksy)propan-2-ol ((RS)-3). (RS)-3 ble videre reagert med vinylbutanat i heksan med CAL-B enzymet. Dette ga stoffene (S)-4 og (R)-4. (R)-4 ble videre reagert med isopropylamin i vann som ga (S)-metoprolol.<sup>[36]</sup>



Skjema 4: Syntese av enantiomert ren metoprolol ved bruk av enzymet CAL-B<sup>[36]</sup>

### 3 Diskusjon

Det er mange positive aspekter ved enzymkatalytisk syntese av 2-(4-hydroksyfenyl)acetamid til (S)-atenolol og 4-(2-metoksyetyl)fenol til (S)-metoprolol når det kommer til miljø og natur. Ved industriell produksjon av legemidler kreves det ofte mye varme, eksempelvis for atenololsyntesen som trenger reaksjonstemperaturer opp mot 100°C. Ved en enzymkatalyse vil temperaturer ned mot 30°C være optimale. Å minimalisere energiforbruket i en reaksjon, er med på å optimalisere syntesen og er ett av de tolv prinsippene beskrevet av Anastas og Warner.<sup>[30]</sup> En mer energieffektiv produksjon er noe grønn kjemi tilstreber.

Høyt forbruk av løsningsmidler er også et miljøproblem innen industriell produksjon av legemidler. Det er en stor kilde til avfall, og det er estimert at opp til 80% av avfall fra legemiddelproduksjon kommer fra løsningsmidler.<sup>[7]</sup> Løsningsmidler kan være miljøskadelige for mennesker og dyr. Ettersom en så stor andel av avfallet er løsningsmidler, er det viktig at kjemikaliene som brukes er miljøvennlige og at avfallshåndteringen gjøres på riktig måte. Toluen, som brukes i begge atenololsyntesene, er mistenkt for å ha innvirkning på reproduksjon hos mennesker og dyr.<sup>[37]</sup> Dette kan medføre risiko for de som arbeider innen produksjon av legemidler. I syntese ved bruk av enzymkatalyse kan vann ofte brukes som løsningsmiddel. Vann er enkelt å få tak i og har ikke i seg selv negativ effekt på miljøet. Et skifte til syntesemetoder hvor store

menger helse og miljøskadelige løsningsmidler er byttet ut med vann, fører til grønnere og tryggere produksjon. Det første prinsippet innen grønn kjemi er at å forhindre avfall er bedre enn å håndtere det senere. Å bytte ut løsningsmidler med vann vil være en fordel da det blir mindre giftig avfall som må håndteres.

I dag selges fortsatt mange legemidler, og de aller fleste  $\beta$ -blokkere, som rasemat.  $\beta_1$ -blokkere er et viktig hjelpemiddel for de som lider av hjerte- og karsykdommer. Med disse legemidlene følger det bivirkninger, og ofte er det (*R*)-enantiomeren som forårsaker dem. De vanligste bivirkningene som forekommer for atenolol er kvalme, diaré og lav puls. For metoprolol er de vanligste bivirkningene trøtthet, svimmelhet, diaré og kvalme. Disse bivirkningene forekommer i 1 av 10 tilfeller, og selvom de ikke er svært alvorlige, vil de likevel medføre en unødvendig ulempe for pasienten. Å finne gode syntesemetoder av  $\beta$ -blokkere som kun syntetiserer (*S*)-enantiomer vil være positivt for pasientsikkerheten da flere av bivirkningene er bevist å komme fra (*R*)-enantiomer.

For noen  $\beta$ -blokkere er det ikke bevist noen negativ effekt av distomeren, men det vil likevel være en fordel for pasienten å kun innta legemidler med eutomer. Eutomer og distomer har ulike metabolske spor i kroppen, og selv om distomeren ikke gir bivirkninger, må den fortsatt skilles ut fra kroppen gjennom metabolske prosesser som medfører unødvendig stress på kroppens organer som nyre og lever. Noen studier konkluderer med at rent (*S*)-metoprolol ikke har nok positiv effekt til at det er verdt å syntetisere rent da bivirkningene er sjeldne og ikke svært alvorlige.<sup>[6]</sup> Selv om bivirkningene ikke er alvorlige, vil det fortsatt påføre kroppen og pasienten unødvendig stress.

Å legge om produksjonen av atenolol og metoprolol med de vanlige syntesemetodene til enzymkatalytiske syntesemetoder, krever nye investeringer. Det koster penger å implementere en ny produksjonsmetode, og når den som allerede eksisterer gir inntjening, vil det være mer motstand mot å endre produksjonsmetode. Noe av kostnaden her vil bli redusert da det vil bli behov for mindre løsningsmidler og da også mindre avfallshåndtering. Enzymer brukes heller ikke opp i en reaksjon, og de kan derfor brukes flere ganger. Derved brukes det mindre ressurser per mengde produkt.

Ved bruk av lipaser i enzymkatalyse er det kun 50% teoretisk utbytte av ønsket enantiomer. Dette er det mulig å gjøre noe med. Ved bruk av dynamisk kinetisk oppløsning, er det mulig å snu stereosenteret til (*R*)-enantiomer om til (*S*)-enantiomer eller omvendt. Dette kalles epimerisering. Det er da mulig å få 100% teoretisk utbytte i reak-

sjonen.<sup>[38]</sup> Andre metoder for å øke teoretisk utbytte er ved Mitsunobu prosess. Denne går ut på invertere stereosenteret til uønsket enantiomer ved bruk av trifenyfosfin og azodikarboksylat.<sup>[39]</sup> Det er også mulig å øke utbytte ved å begynne syntesen med en prokiral forbindelse, for å så gjennomføre en asymmetrisk syntese. I en asymmetrisk syntese vil substrat, reagent eller katalysten være ren enantiomer, og reagere med en prokiral forbindelse. Dette gir syntese av ønsket enantiomer.<sup>[40]</sup> Å velge katalytiske reagenser som er selektive, vil også være bedre for en grønnere kjemi da det gir bedre utbytte.

For å forbedre syntese av legemidler er det viktig å se på hvordan ulike løsningsmidler har innvirkning på stereoselektiviteten. I artikkelen fra Dwivedee et al. forsøkte de atenololsyntesen med CAL-A med flere ulike løsningsmidler, og toluen ga best resultat når det kom til stereoselektivitet.<sup>[19]</sup> For å optimalisere syntese av kirale legemidler, vil det å velge riktig løsningsmiddel gi et bedre resultat. Ettersom toluene kan ha negativ effekt på reproduksjonssystemet, er atenololsyntesen beskrevet av Dwivedee et al. åpen for forbedringer. Lund et al. gjennomførte syntese av (*R*)-4-(3-kloro-2-hydroksypropoksy)fenyl)acetamid, en forløper til atenolol, ved bruk av CAL-B. Da ble acetonitril brukt som løsningsmiddel i den lipasekatalyserte reaksjonen.<sup>[41]</sup> Dwivedee et al. prøvde også med acetonitril som løsningsmiddel for CAL-A katalysert syntese av atenolol, men her ga dette ikke noe utslag.<sup>[19]</sup> Dette viser at løsningsmiddel har mye å si for syntesen, og det behøves mer forskning på løsningsmidler ved ulike enzymkatalyserte reaksjoner.

Ikke alle rasemiske legemidler vil dra nytte av å bli solgt som rene enantiomere. Det kan forekomme enantiomer-enantiomer interaksjoner. Dette er ikke bevist i mennesker, men det er studert i flere dyreforsøk. Blant annet for en annen  $\beta$ -blokker, propranolol, ble det gjort forsøk på rotter. Når (*S*)-propranolol og (*R*)-propranolol ble gitt hver for seg, ble (*S*)-propranolol skilt ut raskere enn (*R*)-propranolol. Når (*RS*)-propranolol ble gitt derimot, ble både (*S*)-propranolol og (*R*)-propranolol skilt ut med omtrent samme hastighet som (*R*)-propranolol alene. Utskillelsen av (*S*)-propranolol i rottene ble altså sattet ned grunnet nærvær av (*R*)-propranolol.<sup>[28]</sup> Slike interaksjoner mellom *R*- og *S*-enantiomer kan være med på å forbedre legemidlene og må derfor tas i betraktning når rasemiske legemidler skal syntetiseres.

Det er ikke kun  $\beta$ -blokkere og legemidler som drar nytte av enzymkatalyse og syntese av rene enantiomere. Enzymkatalyserte synteser kan brukes på syntese av prokirale forbindelser. Med tiden har enzymkatalyse blitt mer og mer avansert. Det kan lages theozymmer, som er teoretiske katalysatorer designet til å passe reaksjonen som øns-



kes. Theozymene kan så lages i et laboratorium, og de er da spesialtilpasset.<sup>[42]</sup> Dette medfører at enzymkatalyse kan brukes på et stort felt molekyler, og syntesene er heller ikke begrenset til enzymene som finnes i naturen.

## 4 Konklusjon

Levealderen i dag blir bare høyere og høyere. Dette medfører at flere og flere mennesker kommer til å leve med høy blodtrykk i fremtiden, med påfølgende økt medisinbehov. For å forbedre pasientopplevelsen er det viktig med gode legemidler som gir så få bivirkninger som mulig.  $\beta_1$ -blokkere er et godt hjelpemiddel for de som har høyt blodtrykk. Legemidlene hjelper til med å senke blodtrykket og avlaste hjertets totale arbeid. Atenolol og metoprolol er to  $\beta_1$ -blokkere som selges i Norge, hvor metoprolol er den som er mest brukt. Disse selges som rasemat og har bivirkninger hvor flere av dem kommer som følge av *R*-enantiomeren. Det er i tillegg *S*-enantiomeren som virker best som  $\beta_1$ -blokker.

Syntese av atenolol og metoprolol, som idag brukes i produksjon, gir rasemiske produkter med bivirkninger, og enantiomerene følger ulike metabolske spor i kroppen. Enzymkatalyserte reaksjoner gir stor stereoselektivitet og vil syntetisere *S*-enantiomer av legemidlene. Dette medfører at flere av bivirkningene unngås, og det gir en bedre pasientopplevelse og pasientsikkerhet. Disse positive endringene gjelder for mange kirale legemidler, da fravær av distomeren ofte gir færre bivirkninger.

Når det gjelder miljøaspektet, brukes det mye løsningsmidler i produksjon av legemidler. En stor prosentandel av alt avfallet som produseres kommer fra løsningsmidler. De enzymkatalyserte syntesemetodene som danner atenolol og metoprolol produserer også mindre avfall enn andre syntesemetoder. Ved bruk av enzymkatalyse kan store deler av løsningsmidlene byttes ut med vann, noe som er positivt da vann er et miljøvennlig løsningsmiddel. Selv om det medfører kostnader å legge om produksjonsmetodene som allerede eksisterer til enzymkatalytiske, vil det være besparelser. Det blir lavere energibehov, samt at redusert bruk løsningsmidler fører til mindre avfallsproduksjon og derved mindre behov for avfallshåndtering. At enzymer kan gjenbrukes vil også gi mindre avfall, samt bedre ressursutnyttelse per kilo produkt som produseres.

Mange typer synteser kan dra nytte av enzymkatalyserte reaksjoner, deriblant syntese av atenolol og metoprolol. Med fremtidige designerenzymer som kan katalysere ønskede reaksjoner, er det mange muligheter for fremtidens legemidler. Det er viktig at pasientsikkerheten ivaretas og at bivirkninger reduseres. Ved et bytte over til enzym-

katalyserte reaksjoner, vil legemiddelindustrien nærme seg de grønne målene satt av Anastasia og Warner, som blant annet omfatter mindre bruk av helse og miljøskadelige løsningsmidler, mer energieffektive prosesser og større selektivitet hos katalysatorer.

## Referanser

- [1] Legemiddelindustrien (LMI), “Tall og fakta 2020 legemidler og helsetjenester,” 2020.
- [2] Nasjonalforeningen for folkehelsen, “Høyt blodtrykk.” <https://nasjonalforeningen.no/hjerte-og-kar/hoyt-blodtrykk/>, 2020, 7.oktober. Hentet 24.02.2021
- [3] Helsenorge, “Høyt blodtrykk.” <https://www.helsenorge.no/sykdom/hjerte-og-kar/hoyt-blodtrykk/>, 2019, 10.september. Hentet 03.03.2021
- [4] FHI (Folkehelseinstitutte), “Reseptregisteret.” <http://www.reseptregisteret.no/>, 2020, april. Hentet 12.03.2021
- [5] H. Bevinakatti and A. Banerji, “Lipase catalysis in organic solvents. application to the synthesis of (r)-and (s)-atenolol,” *The Journal of Organic Chemistry*, vol. 57, no. 22, pp. 6003–6005, 1992.
- [6] G. Wahlund, V. Nerme, T. Abrahamsson, and P.-O. Sjöquist, “The  $\beta_1$  and  $\beta_2$ -adrenoceptor affinity and  $\beta_1$ -blocking potency of s-and r-metoprolol,” *British journal of pharmacology*, vol. 99, no. 3, pp. 592–596, 1990.
- [7] B. W. Cue and J. Zhang, “Green process chemistry in the pharmaceutical industry,” *Green Chemistry Letters and Reviews*, vol. 2, no. 4, pp. 193–211, 2009.
- [8] I. Ariansen and R. Selmer and S. Graff-Iversen and G. M. Egeland and S. Sakshaug, “Hjerte- og karsykdommer i norge.” <https://www.fhi.no/nettpub/hin/ikke-smittsomme/Hjerte-kar/>, 2020, 16.januar. Hentet 12.03.2021
- [9] L. A. Hopstock, K. H. Bønaa, A. E. Eggen, S. Grimsgaard, B. K. Jacobsen, M.-L. Løchen, E. B. Mathiesen, I. Njølstad, and T. Wilsgaard, “Longitudinal and secular trends in blood pressure among women and men in birth cohorts born between 1905 and 1977: the tromsø study 1979 to 2008,” *Hypertension*, vol. 66, no. 3, pp. 496–501, 2015.
- [10] B. Zhou, J. Bentham, M. Di Cesare, H. Bixby, G. Danaei, M. J. Cowan, C. J. Paciorek, G. Singh, K. Hajifathalian, J. E. Bennett, C. Taddei, V. Bilano, R. M. Carrillo-Larco, S. Djalalinia, S. Khatibzadeh, C. Lugero, N. Peykari, W. Z. Zhang, Y. L. (...), and J. Zuñiga Cisneros, “Worldwide trends in blood pressure

from 1975 to 2015: a pooled analysis of 1479 population-based measurement studies with 19·1 million participants,” *The Lancet*, vol. 389, no. 10064, pp. 37–55, 2017.

- [11] FHI, “Færre nordmenn har høyt blodtrykk.” <https://www.fhi.no/nyheter/2017/farre-nordmenn-har-hoyt-blodtrykk/>, 2017. Hentet 02.03.2021
- [12] R. Kvåle, R. Akerkar, and R. M. Selmer, “Bruk av legemidler blant pasienter utskrevet fra sykehus med hjerte- og karsykdom.” <https://www.fhi.no/hn/helseregistre-og-registre/hjertekar/bruk-av-legemidler-blant-pasienter-utskrevet-fra-sykehus-med-hjerte-og-kar/>, 2017. Hentet 26.02.2021
- [13] P. A. Insel, “Adrenergic receptors — evolving concepts and clinical implications,” *New England Journal of Medicine*, vol. 334, no. 9, pp. 580–585, 1996. PMID: 8569827.
- [14] D. L. Nelson and M. M. Cox, *Lehninger Principles of Biochemistry*. W. H. Freeman and Company, 7th ed., 2017. Kap. 12
- [15] N. legemiddelhåndbok, “L8.10 adrenerge agonister.” [https://www.legemiddelhandboka.no/L8.10/Adrenerge\\_agonister](https://www.legemiddelhandboka.no/L8.10/Adrenerge_agonister), 2017, 28.januar. Hentet 03.03.2021
- [16] P. Chidiac, T. E. Hebert, M. Valiquette, M. Dennis, and M. Bouvier, “Inverse agonist activity of beta-adrenergic antagonists.,” *Molecular pharmacology*, vol. 45, no. 3, pp. 490–499, 1994.
- [17] Sykehusapotekene, “Hjertemedisin (betablokkere).” <https://sykehusapotekene.no/rad-og-veiledning/temaer/hjertemedisin-betablokkere>, 2020, 21.oktober. Hentet 02.02.2021
- [18] T. W. G. Solomon, C. B. Fryhle, and S. A. Snyder, *Solomons’ Organic Chemistry*. Wiley, 12th ed., 2016. Kap. 5
- [19] B. P. Dwivedee, S. Ghosh, J. Bhaumik, L. Banoth, and U. C. Banerjee, “Lipase-catalyzed green synthesis of enantiopure atenolol,” *Rsc Advances*, vol. 5, no. 21, pp. 15850–15860, 2015.
- [20] Drugs.com, “Metoprolol.” <https://www.drugs.com/metoprolol.html>, 2019, 1.juli. Hentet 19.03.2021

- [21] N. legemiddelhåndbok, "L8.2.2.1 atenolol." <https://www.legemiddelhandboka.no/L8.2.2.1/Atenolol>, 2018, 05.april. Hentet 14.04.2021
- [22] J. Akisanya, A. W. Parkins, and J. W. Steed, "A synthesis of atenolol using a nitrile hydration catalyst," *Organic process research development*, vol. 2, no. 4, pp. 274–276, 1998.
- [23] Legemiddelindustrien (LMI), "Tall og fakta 2015 legemidler og helsetjenester," 2015.
- [24] N. legemiddelhåndbok, "L8.2.2.6 metoprolol." <https://www.legemiddelhandboka.no/L8.2.2.6/Metoprolol>, 2017, 20. desember. Hentet 18.04.2021
- [25] C. A. AGUILAR and J. B. I. LLADO, "Improved synthesis and preparations of meoprolol and its salts," Dec. 13 2007. WO2007141593A2.
- [26] A. Fassihi, "Racemates and enantiomers in drug development," *International journal of pharmaceutics*, vol. 92, no. 1-3, pp. 1–14, 1993.
- [27] L. A. Nguyen, H. He, and C. Pham-Huy, "Chiral drugs: an overview," *International journal of biomedical science: IJBS*, vol. 2, no. 2, p. 85, 2006.
- [28] K. Williams and E. Lee, "Importance of drug enantiomers in clinical pharmacology," *Drugs*, vol. 30, no. 4, pp. 333–354, 1985.
- [29] K. M. Rentsch, "The importance of stereoselective determination of drugs in the clinical laboratory," *Journal of biochemical and biophysical methods*, vol. 54, no. 1-3, pp. 1–9, 2002.
- [30] P. T. Anastas and J. C. Warner, *Green Chemistry: Theory and Practice*. Oxford University Press, **1998**.
- [31] I. T. Horvath and P. T. Anastas, "Innovations and green chemistry," *Chemical reviews*, vol. 107, no. 6, pp. 2169–2173, 2007.
- [32] K. Faber and K. Faber, *Biotransformations in organic chemistry*, vol. 4. Springer, 1992.
- [33] K. Drauz, H. Gröger, and O. May, *Enzyme Catalysis in Organic Synthesis, 3 Volume Set*, vol. 1. John Wiley & Sons, 2012.

- [34] J. Agustian, A. H. Kamaruddin, and S. Bhatia, "Single enantiomeric  $\beta$ -blockers—the existing technologies," *Process Biochemistry*, vol. 45, no. 10, pp. 1587–1604, 2010.
- [35] P. D. de María, C. Carboni-Oerlemans, B. Tuin, G. Bargeman, R. van Gemert, *et al.*, "Biotechnological applications of candida antarctica lipase a: State-of-the-art," *Journal of molecular catalysis b: enzymatic*, vol. 37, no. 1-6, pp. 36–46, 2005.
- [36] P. L. Bøckmann, "Synthesis of enantiopure  $\beta$ -blocker (s)-metoprolol and derivatives by lipase catalysis." Norwegian University of Science and Technology, 2015.
- [37] J. M. Donald, K. Hooper, and C. Hopenhayn-Rich, "Reproductive and developmental toxicity of toluene: a review.," *Environmental health perspectives*, vol. 94, pp. 237–244, 1991.
- [38] R. S. Ward, "Dynamic kinetic resolution," *Tetrahedron: Asymmetry*, vol. 6, no. 7, pp. 1475–1490, 1995.
- [39] K. K. Swamy, N. B. Kumar, E. Balaraman, and K. P. Kumar, "Mitsunobu and related reactions: advances and applications," *Chemical reviews*, vol. 109, no. 6, pp. 2551–2651, 2009.
- [40] S. Mane, "Racemic drug resolution: a comprehensive guide," *Analytical Methods*, vol. 8, no. 42, pp. 7567–7586, 2016.
- [41] I. T. Lund, P. L. Bøckmann, and E. E. Jacobsen, "Highly enantioselective calb-catalyzed kinetic resolution of building blocks for  $\beta$ -blocker atenolol," *Tetrahedron*, vol. 72, no. 46, pp. 7288–7292, 2016.
- [42] H. A. Bunzel, J. R. Anderson, and A. J. Mulholland, "Designing better enzymes: Insights from directed evolution," *Current Opinion in Structural Biology*, vol. 67, pp. 212–218, 2021.