

SLUTRAPPORT

MUDP forprojekt

[08/2022 – 05/2023]

# TriptoBIO – Miljøvenlig rottebekæmpelse

16. AUGUST 2023

Af Johan Andersen-Ranberg, PhD,  
& Jon Christensen  
TriptoBIO ApS, CVR: 43307495



  
mudp

---

## Miljøteknologisk Udviklings- og Demonstrationsprogram

Projektet, som er beskrevet i denne rapport, er støttet af Miljøteknologisk Udviklings- og Demonstrationsprogram (MUDP) under Miljøministeriet, der støtter udvikling, test og demonstration af miljøteknologi.

MUDP investerer i udvikling af fremtidens miljøteknologi til gavn for klima og miljø i Danmark og globalt, samtidig med at dansk vækst og beskæftigelse styrkes. Programmet understøtter dels den bredere miljødagsorden, herunder rent vand, ren luft og sikker kemi, men understøtter også regeringens målsætninger inden for klima, biodiversitet og cirkulær økonomi.

Det er MUDP's bestyrelse, som beslutter, hvilke projekter der skal modtage tilskud. Bestyrelsen betjenes af MUDP-sekretariatet i Miljøstyrelsen.

### **MUDP-sekretariatet i Miljøstyrelsen**

Tolderlundsvej 5, 5000 Odense | Tlf. +45 72 54 40 00

**Mail:** [ecoinnovation@mst.dk](mailto:ecoinnovation@mst.dk)

**Web:** [www.ecoinnovation.dk](http://www.ecoinnovation.dk)

*Denne slutrapport er godkendt af MUDP, men det er alene rapportens forfatter/projektlederen, som er ansvarlige for indholdet. Rapporten må citeres med kildeangivelse.*

---

## SLUTRAPPORT

### TriptoBIO – Miljøvenlig rottebekæmpelse

#### FAKTA OM PROJEKTET

---

Projektperiode: 08/2022 – 05/2023

Projektdeltagere: TriptoBIO ApS

Bevilling fra MUDP: 499 100 DKK

Projektleder: Johan Andersen-Ranberg, PhD

#### FORMÅL

---

Målet for MUDP forprojektet var at afklare centrale tekniske produktionsforhold, herunder undersøge mulige oprensningemetoder og identificere væsentlige procesudfordringer og risici i forbindelse med fermenteringsbaseret produktion af triptolid, som er det aktive stof i p-pille baseret rottebekæmpelse.

#### PROJEKTETS RELEVANS

---

Rottebekæmpelse er et stort samfundsproblem, og der bruges hvert år milliarder på at begrænse den globale rottebestand, der ødelægger fødevarer og spreder sygdomme. Rottegift er det mest effektive værktøj imod rotter og derfor et onde, vi ser os nødsaget til at acceptere, selvom dets ekstreme giftighed og skadelighed for miljøet er velkendt.

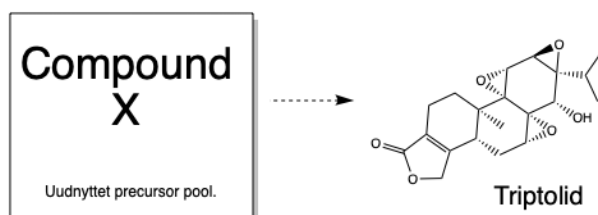
Præventionsbaseret rottebekæmpelse er en effektiv og miljøvenlig metode til bekæmpelse af rotter. Produktet er EPA-godkendt i USA, hvor det oplever hastig vækst, men udbredelsen begrænses af den høje pris og lave tilgængelighed af det aktive stof, triptolid. Triptolid er et naturligt stof, der kommer fra planten *Tripterygium wilfordii*, som udelukkende gror i de sydkinesiske bjerge, og planteekstraktionen er dyr og kræver store mængder giftige opløsningsmidler.

Vi har udviklet og patenteret en ny produktionsmetode af triptolid baseret på fermentering, der kan gøre triptolidproduktion 50-100 gange billigere og fuldt skalerbar. Målet med MUDP forprojektet var at studere processer til at oprense triptolid fra vores fermenteringsproces for efterfølgende at kunne udvikle en produktionsproces fra fermentering til færdigt produkt – og dermed hjælpe præventionsbaseret rottebekæmpelse til global udbredelse.

## HOVEDRESULTATER

### Identificering af urenheder

Baseret på analyse af metabolitdata fra de videnskabelige studier, der danner basis for vores teknologi, har vi fundet, at urenhederne i vores fermenteringsekstrakter hovedsageligt udgøres af et stof. Ved undersøgelser med LC-MS (high resolution) og NMR og analyse af MS2 spektra, <sup>1</sup>H-NMR spectra, <sup>13</sup>C-NMR spektra, NOESY spektra, ROESY spektra, HMBC- spektra, var vi i stand til at identificere denne urenhed. På grund af mulighed for ny IP relateret til dette stof, vil det betegnes compound X i resten af afrapporteringen.



Triptinin B og stoffer identificeret i tidligere videnskabelige studier af produkterne fra fermenteringsprocessen (N. L. Hansen, et al., Nature Communications 2022, 13, 5011.) blev udvalgt til *in silico* studier for at bestemme udvalgte fysiske og kemiske egenskaber såsom logP og pK<sub>a</sub>, der er relevante for oprensningsprocessen.

Da compound X er en syre, inkluderede vi brugen af ionbytter-kromatografi til at fjerne compound X som urenhed i vores fermenteringsekstrakter. Udover ionbytter kromatografi har vi undersøgt muligheden for at anvende liquid-liquid extraction (LLE), krystallisering, reverse-phase high-pressure liquid chromatography (HPLC), normal-phase solid-phase extraction (SPE) og dry column vacuum chromatography (DCVC).

Mulighederne for at anvende de forskellige metoder i produktionskala blev undersøgt via litteraturstudier, hvor hovedkonklusionen dog var, at den videnskabelige litteratur er præget af akademisk forskning, der beskriver oprensningsprocesser i lille skala.

Gennemførlighedsundersøgelse for skalerede processer blev videre understøttet med ekspertinterviews, inklusiv: Dr. Andreas Worberg, leder af Pre-Pilot-Plant at Center for Biosustainability ved DTU, Ioannis V. Skedas Associate, Professor DTU Kemiteknik, samt Jørgen Hansen, Chief Scientific Officer ved RiverStoneBio.

Baseret på litteraturstudier, *in silico* studier og interviews, er det blevet etableret, at en proces bestående af LLE, DCVC samt krystallisering kan skaleres og dermed anvendes i fermenteringsbaseret produktion af triptolid. Pilotforsøg i mg skala har efterfølgende vist, at en renhed på 70% kan opnås med en LLE proces efterfulgt af DCVC.

Alle analyser og resultater er afrapporteret og tilgængelige til internt brug i TriptoBIO ApS.

---

## PROJEKTFORLØB OG ERFARINGER

---

Projektforløbet har været kraftigt påvirket af udviklingen i TriptoBIO siden ansøgningstidspunktet, hvor TriptoBIO bestod af et founder-team på to personer. Med investering fra bl.a. BioInnovation Institute (4m DKK) og Vækstfonden (4m DKK), er vi nu 9 dygtige forskere, inklusiv 5 PhDer, med specialer i strain engineering, fermentering og biokemisk oprensning.

Støtten fra MUDP har været afgørende for, at vi har kunnet tiltrække disse investeringer, som gør, at vi har kunnet udvikle vores produktion på alle facetter – og er kommet betydeligt længere, end vi havde sat os for i MUDP forprojektet.

Specielt ansættelsen af Kenneth Kongstad, bl.a. tidligere forskningsgruppeleder ved Københavns Universitet og med over 20 års erfaring i udvikling af oprensningsprocesser for naturstoffer, har været afgørende for forprojektet. Han har ledt – og sikret en høj kvalitet i – de gennemførte litteraturstudier, evalueringen af identificerede oprensningsprocesser og de eksperimentelle undersøgelser, der har valideret de teoretiske overvejelser.

Den mest uventede erfaring fra projektet er, at compound X kan få stor effekt på det videre udviklingsarbejde. At compound X er den fremherskende urenhed i outputtet fra vores fermenteringsproces tydeliggør, at der ligger et stort uudnyttet potentiale for at forbedre triptolidproduktiviteten ved at fremme omdannelsen af denne pre-cursor. Samtidig vil det reducere oprensningsomkostningerne med op mod 50%, da compound X er vores største urenhed.

Desuden har undersøgelserne af oprensningsprocessen vist, at triptonids og triptolids høje lipofilitet formentlig betyder at vi kan gøre oprensningen betydeligt billigere ved at udvikle en fermentering med såkaldte "beads", der absorberer fermenteringsproduktet *in situ* under fermenteringen. Og endelig at vi med den udviklede oprensningsproces har mest at vinde i det sidste trin, hvor triptonid omdannes til triptolid, som herefter oprenses.

## KONKLUSION OG PERSPEKTIVERING

---

Projektet har ledt til en klar plan for en skalerbar oprensningsproces for TriptoBIOs fermenteringsbaserede triptolid-produktion, og endvidere eksperimentelt valideret den betydeligt ud over projektets målsætning – som følge af den betydelige vækst og tilgang af talent, virksomheden har oplevet siden ansøgningstidspunktet.

Derudover har analyserne i forbindelse med projektet givet os en række afgørende indsigter, som kan gøre vores triptolid-produktion billigere end planteekstraktion og kan skaleres til at møde den hastigt voksende efterspørgsel. Dermed kan TriptoBIO blive klar til at gå i markedet – og fremskynde den globale udbredelse af præventionsbaseret rottebekæmpelse, så naturen kan blive fri for rottegift.

---

Det vil vi udnytte i et MUDP udviklingsprojekt. For det første vil vi bruge vores viden fra forprojektet om vigtigheden af compound X til at øge vores titer >10x alene ved at forbedre omdannelsen af compound X. Samtidig vil det reducere oprensningssomkostningerne med op mod 50%, da compound X er vores største urenhed.

For det andet vil vi bruge vores indsigt fra undersøgelserne i forprojektet om, at vi sandsynligvis kan udnytte triptonids/triptolids høje lipofilitet til at udvikle en fermentering med absorptions-”beads”, hvilket kan sænke væskevolumenet – og udstyrstørrelsen – i vores oprensningsproces med 10x, og samtidig reducere mængden af anvendt solvent med 2-5x.

Og fra den oprensningsproces i laboratorieskala vi har udviklet, ved vi, at det største forbedringspotentiale ligger i sidste skridt, hvor der ved kemisk syntese omdannes triptonid, fermenteringens nuværende slutprodukt, til triptolid. Ved at identificere og implementere de enzymer, der omdanner triptonid til triptolid, kan vi reducere oprensningssomkostningen med 20% på kort sigt og 50% på lang sigt.

Disse tre mål for et MUDP udviklingsprojekt er alle direkte udløbere af, hvad vi har lært i MUDP forprojektet. I udviklingsprojektet vil vi endelig samle dem for at udvikle en produktionsproces, der er billigere end planteekstraktion (\$400-500/g). For at kunne overføre teknologien til en CMO, skal vi først udvikle og dokumentere den fulde proces i 500 L skala hos en CDMO, hvilket vil være det fjerde og sidste mål for udviklingsprojektet.

## FORMIDLING

---

På baggrund af vores investeringer fra BII og Vækstfonden havde Børsen d. 18. februar en 8-siders feature om TriptoBIO, hvorefter alle større danske TV/radio (TV-Avisen, TV2 Nyhederne, Go'Morgen Danmark, DR P1) og aviser (Politiken, JP, Berlingske) samlede historien op.

I alt er vores historie bragt i mindst 114 medier fordelt ligeligt mellem ind- og udland. Da TIME Magazine fik øje på historien og tog kontakt, lykkedes det os yderligere at koordinere en større historie om præventionsbaseret rottebekæmpelse: <https://time.com/6264623/rat-birth-control-poison-contrapest/>

Responsen var overvældende positiv, og vi ser frem til igen at kunne aktivere medierne, når TriptoBIO har udviklet en skalerbar produktionsproces, og er klar til hjælpe triptolid-baseret rottebekæmpelse på vej mod global udbredelse.

### Udvalgte publikationer:

TIME magazine: <https://time.com/6264623/rat-birth-control-poison-contrapest/>

DR TV-avisen 18:30, 13. Febuar 2023, time stamp: 21:34 (link ikke tilgængeligt)

TV2 Nyhederne 21:30, 13. Februar 2023, time stamp: 17:39 (link ikke tilgængeligt)

Berlingske: <https://www.berlingske.dk/samfund/forskere-vil-bekaempe-koebenhavnsk-plage-rotter-skal-have-p-piller>

BT: <https://www.bt.dk/samfund/en-plantebaseret-p-pille-til-rotter-skal-goere-gift-overfloedigt>

Ritzau: <https://via.ritzau.dk/pressemeddelelse/p-piller-til-rotter-er-fremtidens-rottebehaempelse?publisherId=13561218&releasId=13671099>

Børsen: <https://borsen.dk/nyheder/virksomheder/virksomhed-faar-millioner-til-rottepraevention>

Jyllandsposten: <https://jyllands-posten.dk/indland/ECE15103553/en-plantebaseret-ppille-til-rotter-skal-goere-gift-overfloedigt/>

Fyn Amts Avis:



Læs mere om MUDP på [www.ecoinnovation.dk](http://www.ecoinnovation.dk)

