

## **Abschlussbericht Max-Buchner-Forschungsstipendium**

### Lösungsvermittler für kontinuierliche wässrig/organische Zweiphasenreaktionen am Beispiel von enzymatischen enantioselektiven Reduktionen

Susanne Leuchs, DECHEMA-Forschungsinstitut, Frankfurt am Main  
Lasse Greiner, Hochschule Mannheim

Organisch/wässrige Zweiphasensysteme sind ein attraktives Konzept für die Katalyse, wenn der Katalysator in der reaktiven Phase verbleibt und die nicht-reaktive Phase als Reservoir für Substrate und Produkte dient. Dies kann dann auch für die kontinuierliche Umsetzung genutzt werden. Dieses Prinzip wurde bei der chemischen homogenen Katalyse erfolgreich realisiert und brachte den Durchbruch für diese Katalysatorklasse in der großtechnischen Umsetzung.<sup>i</sup> Dieser Ansatz wird allerdings durch die effektive Konzentration in der reaktiven Wasserphase begrenzt. Hier wäre der Einsatz von Lösungsvermittlern zur Konzentrationserhöhung vorteilhaft. Ionische Flüssigkeiten sind eine interessante Alternative um das Problem der Toxizität der organischen Lösungsmittel für die Mikroorganismen zu überwinden.<sup>ii</sup> Enzymatische Prozesse in Zweiphasensystemen werden ebenfalls genutzt.<sup>iii</sup>

Für Wasser als Einzelphase kann man Lösungsvermittler einsetzen um die effektive Löslichkeit und damit die Konzentration der Reaktanden zu erhöhen. Dies können einfache organische wassermischbare bzw. -lösliche Lösemittel sein, wie zum Beispiel Alkanole (typischerweise Methanol, Ethanol, 1- und 2-Propanol), Sulfoxide (z. B. Dimethylsulfoxid) oder andere. Weiterhin können Lösungsvermittler wie Cyclodextrine,<sup>iv,v</sup> ionische oder nichtionische Detergentien bzw. ionische Flüssigkeiten eingesetzt werden. Hier sind zahlreiche Beispiele beschrieben und die eigenen Arbeiten dienen als Ausgangsbasis.<sup>vi, vii</sup>

Es wurden zunächst der Einfluss des ausgewählten Lösungsvermittlers auf die Verteilungskoeffizienten bestimmt und vergleichende Satzversuche durchgeführt. Zur Demonstration der Machbarkeit wurde dann eine kontinuierliche Zweiphasenreaktion mit und ohne Lösungsvermittler durchgeführt und verglichen.

#### **Verteilungskoeffizienten**

In den Voruntersuchungen hatte sich für die kontinuierliche Durchführung im Einphasensystem das Tensid TEGO IL K5 (IL) als vorteilhaft erwiesen und wurde für die weiteren Versuche getestet. Als Modellsystem wurde die enantioselektive Reduktion von 2-Octanon mit der Alkoholdehydrogenase aus *Lactobacillus brevis* untersucht. Für die organische nicht-reaktive Phase wurde auf Basis der Voruntersuchungen auf Methyl-*tert*-butylether (MTBE) zurückgegriffen, der bereits erfolgreich eingesetzt werden konnte.

Die Verteilungskoeffizienten für Aceton und 2-Propanol in MTBE/wässrigen Systemen in Abhängigkeit von der IL Konzentration in der wässrigen Phase sind im Rahmen des Fehlers und werden nur wenig durch die Anwesenheit der IL beeinflusst (Abbildung 1). Für das Modellsystem 2-Octanon und 2-Octanol wurde eine Verringerung des Verteilungskoeffizienten gefunden, der gewünschte Effekt wurde demnach erzielt, die Konzentration an 2-Octanon und 2-Octanol reaktiven Wasserphase wurde erhöht (Abbildung 2).

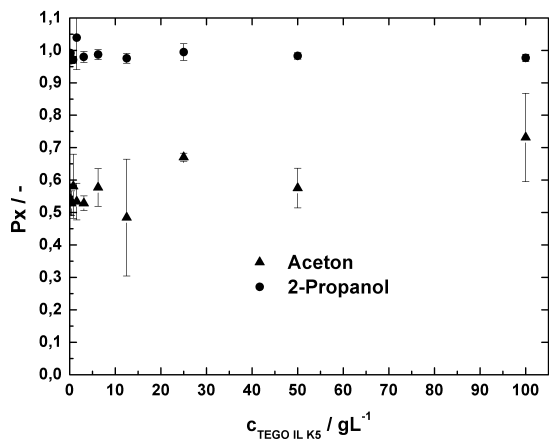


Abbildung 1: Verteilungskoeffizient von Aceton und 2-Propanol in MTBE-Wasser als Funktion der IL-Konzentration in der wässrigen Phase

§

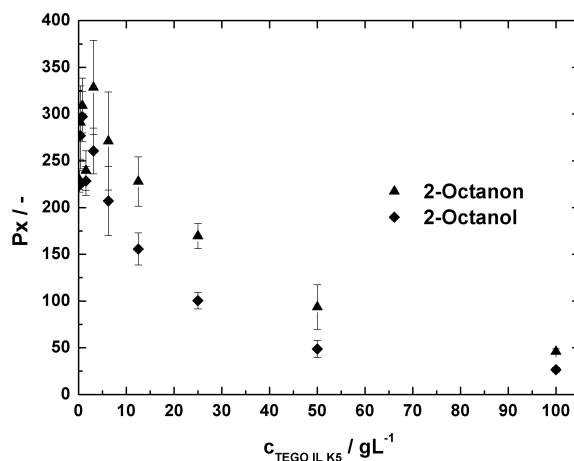


Abbildung 2: Verteilungskoeffizient von 2-Octanon und 2-Octanol in MTBE-Wasser als Funktion der IL-Konzentration in der wässrigen Phase

## Satzversuche

Zunächst wurden Batchversuche durchgeführt um zu überprüfen, ob die Zugabe von IL die Reaktion beschleunigt. Bei unterschiedlichen IL-Konzentrationen in der wässrigen Phase wurden neben 2-Octanon auch die homologen Alkanone bis 2-Dodecanon untersucht.

Die IL hat kaum einen Einfluss auf die Reaktionsgeschwindigkeit bei 2-Octanon. Geringe IL Konzentrationen scheinen die Reaktion eher zu verlangsamen. Erst bei IL-Konzentrationen von 100g/L wird die ursprüngliche Reaktionsgeschwindigkeit ohne IL wieder erreicht. Ohne IL liegt der Verteilungskoeffizient für 2-Octanon bei ~300 mit der 2-Octanonkonzentration von 100 mM in der MTBE-Phase erreicht man also eine Konzentration von etwa 0,3 mM 2-Octanon in der wässrigen Phase. Die Kinetik der LbADH zeigt, dass man bei einer Substratkonzentration von 0,3 mM schon im Bereich einer Reaktion mit pseudo-nullter Ordnung liegt. Höhere Substratkonzentrationen beschleunigen die Reaktion also nicht weiter. Bei den höheren homologen Substraten konnte eine Beschleunigung der Reaktion beobachtet werden. Besonders deutlich war dieser Effekt bei der Reaktion mit 2-Decanon als Substrat (Abbildung 3).

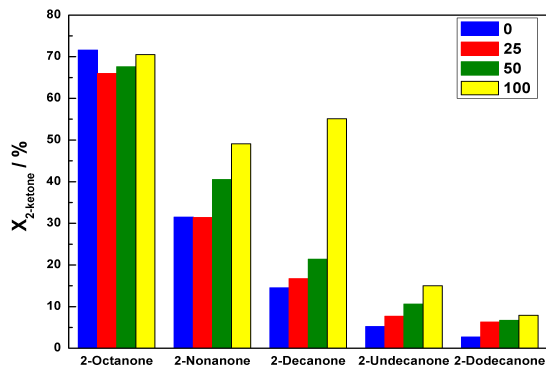


Abbildung 3: Umsatz nach 500

Stunden für verschiedene Substrate (2-Octanon bis 2-Dodecanon je 100 mM in der organischen Phase) und IL-Konzentrationen(0-100 g/L)

## Kontinuierliche Synthese mit 2-Nonanon als Substrat

Da bei 2-Octanon als Substrat kein Effekt durch die IL im Satzreaktor beobachtet wurde, hingegen bei den höheren Homologen eine Beschleunigung zu erwarten war, wurde die zweiphasige Synthese mit 2-Nonanon als Substrat getestet. Zunächst wurde ohne IL in der wässrigen Phase gestartet. Dann wurde die Reaktion mit 100 g/L IL in der wässrigen/reaktiven Phase neu gestartet, indem die gesamte reaktive Wasserphase substituiert wurde (Abbildung 4). Das Hinzufügen von 100 g/L IL in der wässrigen Phase zeigt eine deutliche Umsatzsteigerung um mehr als den Faktor zwei. Weiterhin konnte eine Reduzierung der Desaktivierung beobachtet werden, was der Stabilisierung im einphasigen Reaktionssystem entspricht. Ein Verlust der IL

in die organische Phase konnte nicht beobachtet werden. Hierfür spricht unter anderem die höhere Stabilität des Systems mit IL.

Die Tabelle zeigt den Vergleich der Hauptparameter. Durchgängig konnte bereits in der kurzen Laufzeit von 50h durch die Umsatzsteigerung eine entsprechende Verbesserung in der gleichen Größenordnung erhalten werden.

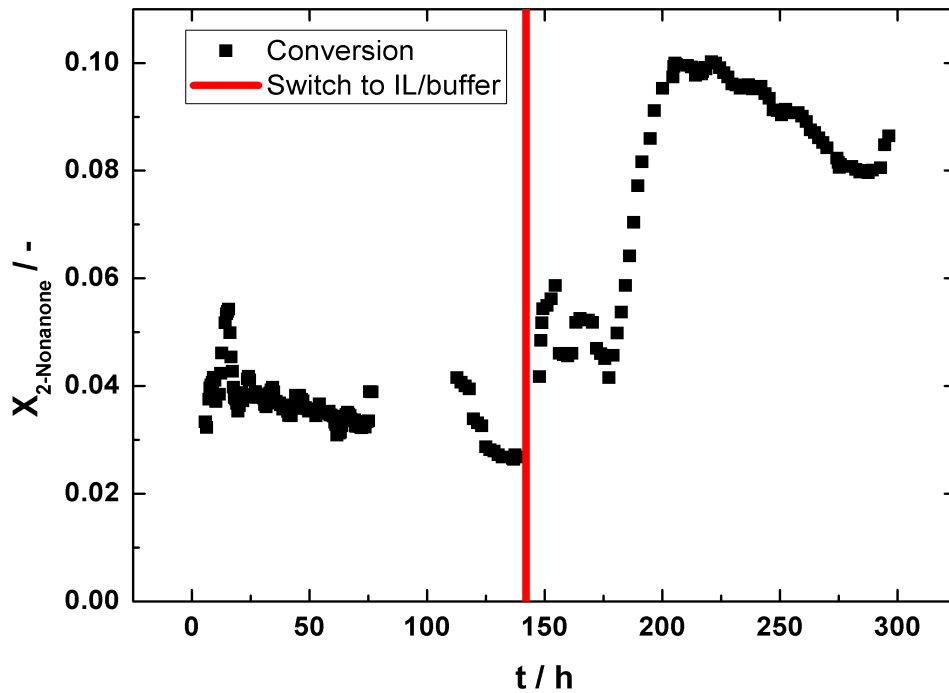


Abbildung 4: Umsatz als Funktion der Zeit für die kontinuierliche zweiphasige Reduktion von 2-Nonanon mit und ohne Zugabe von IL als Lösungsvermittler

Tabelle: Kenngrößen im Vergleich für die kontinuierliche Reduktion von 2-Nonanon im Zweiphasensystem MTBE/Wasser

	Ohne IL	Mit IL
Laufzeit / h	50	50
STY mmol/L <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	10,8	28,5
TON <sub>LbADH</sub> / 10 <sup>3</sup>	4610	12350
TON <sub>NADP+</sub> / 10 <sup>3</sup>	440	1190
Desaktivierung / % h <sup>-1</sup>	0,02	0,01
Maximaler Umsatz / %	3,6	9,6

## **Fazit**

Es konnte gezeigt werden, dass der Einsatz des Tensids (IL) die zweiphasige Synthese von enantiomerenreinen Alkoholen positiv beeinflusst. In der Synthese mit 2-Nonanon als Substrat konnte der Umsatz mehr als verdoppelt werden. Allerdings ist der Umsatz für präparative Zwecke nach wie vor gering und weitere Untersuchungen werden zeigen, wie weit dieser Ansatz für die Zweiphasenkatalyse generell anwendbar ist.

- i Keim, W. "Multiphase catalysis and its potential in catalytic processes: the story of biphasic homogeneous catalysis" *Green Chemistry*, 2003, 5, 105-111.
- ii Pfründer, H.; Amidjojo, M.; Kragl, U. & Weuster-Botz, D. "Effiziente Ganzzell-Biotransformation im zweiphasigen System ionische Flüssigkeit/Wasser" *Angewandte Chemie*, 2004, 116, 4629-4631
- iii Review: Fernandes, P. & Cabral, "Biocatalysis in Biphasic Systems: General "Organic Synthesis with Enzymes in Non-Aqueous Media ", J. M. S. Carrea, G. & Riva, S. (Eds.), Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2008, 189-210.
- iv Zelinski, T.; Liese, A.; Wandrey, C. & Kula, M. "Asymmetric reductions in aqueous media: enzymatic synthesis in cyclodextrin containing buffers" *Tetrahedron: Asymmetry*, Elsevier, 1999, 10, 1681-1687.
- v Harper, J.; Easton, C. & Lincoln, S. "Cyclodextrins to increase the utility of enzymes in organic synthesis" *Current Organic Chemistry*, Bentham Science Publishers, 2000, 4, 429-454.
- vi Leuchs, S.; Na'amnieh, S. N. & Greiner, L. „Enantioselective reduction of sparingly water-soluble ketones: Continuous process and recycle of the aqueous buffer system" *Green Chemistry*, 2013, 15, 167-176.
- vii Leuchs, S.; Nonnen, T.; Dechambre, D.; Na'amnieh, S. N. & Greiner, L. „Continuous biphasic enzymatic reduction of aliphatic ketones" *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, 2013, 74, 52-59.