

# Enzymatische Synthese von Duftstoffen

## Kompetenzzentrum Biokatalyse



v.l.:

**Prof. Dr. Rebecca Buller**  
Leiterin Kompetenzzentrum  
Biokatalyse, bull@zhaw.ch

**Dr. Michael Eichenberger**  
Wissenschaftlicher Mitarbeiter,  
eicb@zhaw.ch

**Dr. Katrin Hecht**  
Wissenschaftliche Mitarbeiterin,  
hect@zhaw.ch

### Forschungsprojekt Biocatalytic production of (*R*)- $\alpha$ -ionone

#### Leitung:

Prof. Dr. Rebecca Buller, Kom-  
petenzzentrum Biokatalyse

#### Dauer:

01.01.2017 – 30.06.2021

#### Projektpartner:

ZHAW Kompetenzzentrum  
Biokatalyse: Prof. Dr. Rebecca  
Buller, Dr. Michael Eichenberger,  
Sean Hüppi, David Patsch;  
ZHAW-Forschungsgruppe  
Bioverfahrenstechnik: Prof.  
Dr. Dieter Eibl, Cedric Schirmer;  
Givaudan Schweiz: Dr. Eric  
Eichhorn, Dr. Felix Flachs-  
mann, Dr. Sabine Vollenweider.

#### Förderung:

SBFI, Staatssekretariat für  
Bildung, Forschung und Inno-  
vation (P-14 Innovationsraum  
Biokatalyse: Toolbox für nach-  
haltige biobasierte Produktion)

**A:** Varianten von Squalen-Hopen-Zyklasten katalysieren die Zyklisierungsreaktionen von Geranylacetat und Derivaten stereo kontrolliert; **B:** Molekulares Docking von Nerylacetat (Z, orange) und Geranylacetat (E, violett) in ein Homologiemodell von AacSHC\_R2.3.

**I**onone sind wichtige Bestandteile des Duftes von Blumen und Früchten. Eine erste chemische Synthese zur Gewinnung von Iononen aus Pseudoionon wurde bereits 1893 etabliert und genutzt. Das Produkt dieser sogenannten Kation-Olefin-Zyklisierung ist ein Racemat. Die Entwicklung neuer Syntheserouten zur Herstellung der optisch reinen Verbindungen ist somit von grosser Bedeutung.

### Enzymatische Strategie zur asymmetrischen Synthese von Iononen

Squalen-Hopen-Zyklasten (SHCs) sind Enzyme, die Zyklisierungsreaktionen polyener Substrate mit perfekter Stereokontrolle katalysieren können. Sie akzeptieren Ausgangsmoleküle variierender Länge (C<sub>10</sub>–C<sub>35</sub>) und können für unterschiedliche Aufgaben optimiert werden. Das Kompetenzzentrum für Biokatalyse entwickelte zusammen mit Givaudan SA Strategien zum Einsatz von SHCs zur asymmetrischen Synthese der Enantiomere von  $\gamma$ -Dihydroionon (**1,2**), die interessante

Ausgangstoffe für die Duft- und Aromaindustrie bilden. Das (*S*)-Enantiomer (**2**) ist zum Beispiel eine Vorstufe der Verbindung  $\alpha$ -Ambrinol (**3**), die wegen ihres holzigen, tabak- und moschusartigen Geruchs in der Parfümindustrie gefragt ist.

### Enzymoptimierung

Um Enzyme zu identifizieren, die das Ausgangsmaterial (*Z/E*)-Geranylacetat in den gewünschten Monozyklus umsetzen können, wurde eine Enzym-Bibliothek aus 31 natürlichen SHC-Homologen aufgebaut, darunter auch 18 vorher nicht beschriebene Enzym-Varianten. Das Enzym AacSHC aus *Acidothermus cellolyticus*, eine neue SHC-Variante, produzierte in Ganzzell-Biokatalysen neben einem bityklischen Produkt eine kleine Menge des gewünschten monozyklischen Produkts (*R*)- $\gamma$ -Dihydroionon (**1**). Mittels gerichteter Evolution konnte die Produktion von (**1**) signifikant verbessert werden. Durch Analysen der reinen, geometrischen Isomeren Nerylacetat (*Z*, **4**) und Geranylacetat (*E*, **5**) konnte gezeigt werden, dass die optimierten Varianten des Enzyms AacSHC in Abhängigkeit von der räumlichen Orientierung des Ausgangssubstrats entweder die gewünschte monozyklische Verbindung (**1**) oder ein bityklisches Produkt (**7**) produzierten.

### Substratstrategie

Die Geometrie des Substrates war auch bei der Synthese des enantio-

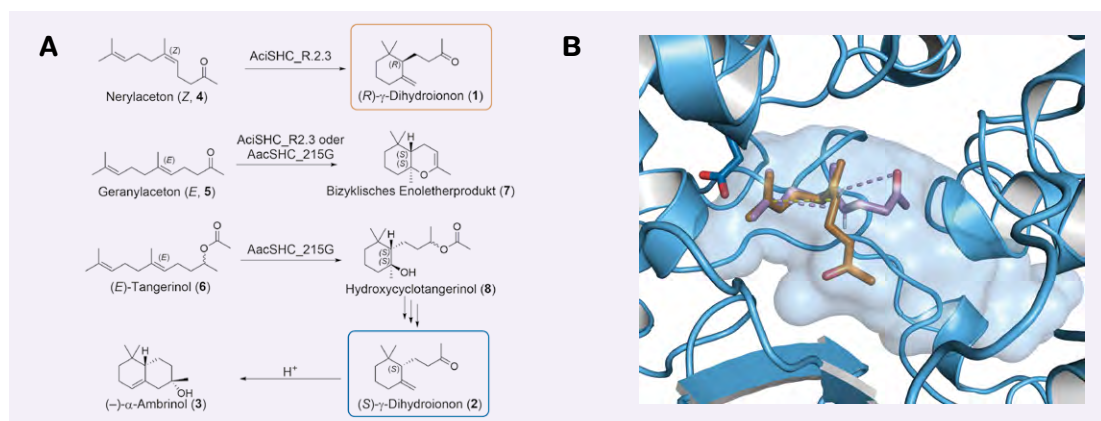
komplementären (*S*)- $\gamma$ -Dihydroionon (**2**) durch die industriell relevante SHC-Variante AacSHC\_215G entscheidend. Basierend auf den Erkenntnissen zur Produktion von (*R*)- $\gamma$ -Dihydroionon (**1**) wurde die Carbonylgruppe des (*E*)-Isomeres (**5**) chemisch geschützt (**6**), um die Bildung des bityklischen Ringes zu verhindern. Durch dieses Substrat-Engineering konnte so die Verbindung (**8**) hergestellt werden, welche chemisch in das gewünschte (*S*)-Enantiomer (**2**) umgewandelt werden kann (>99% ee).

### Mechanismus

Kationische Zyklisierungskaskaden sind leistungsfähige Werkzeuge für den schnellen und hocheffizienten Aufbau komplexer Kohlenstoffgerüste. Stereoselektive Methoden zur Terminierung der Kaskade an einem gewünschten Zwischenprodukt sind jedoch unterentwickelt. In der hier vorgestellten Studie konnte gezeigt werden, dass die Stereoselektivität der enzym-katalysierten Zyklisierung durch die Doppelbindungsgeometrie des Startmaterials bestimmt wird. Dieses Prinzip kann für die asymmetrische Synthese weiterer zyklischer Naturstoffe angewendet werden. ■

### Referenz:

Eichenberger, M., Hüppi, S., Patsch, D., et al., (2021) *Angew. Chem. Int. Ed.* in press (doi.org/10.1002/anie.202108037)



## Filtrieren nach dem Austern-Prinzip

**Prof. Dr. Christian Adlhart**, Leiter Fachstelle Funktionsmaterialien und Nanotechnologie

Austern filtern für die Nahrungsaufnahme mehrere hundert Liter Wasser pro Tag. Im Rahmen eines BIOMAT-Projekts haben sich Forschende der Fachgruppe Funktionsmaterialien und Nanotechnologie gefragt, ob sie nicht einen ähnlichen Filter konstruieren könnten, um Gewässer von Mikroplastik zu befreien. Dabei setzten sie auf die Technologie von hochporösen flexiblen Nanofaser-Schwämmen. Um die Gewässer durch den Filter nicht zusätzlich zu belasten, wurde aus dem biologisch abbaubaren Biomaterial Chitosan hergestellt, das unter anderem in Krustentieren vorkommt und als Nebenstrom der Lebensmittelindustrie anfällt. Der Einsatz von Chitosan für Nanofaser-Schwämme ist neu, und eine grosse Herausforderung für den Herstellprozess war der konsequente Verzicht auf halogenierte Lösemittel. Im «Austern-Betrieb» gelang es, den Gehalt an Mikroplastik um 80 Prozent zu reduzieren, wobei 30 Liter Wasser pro Tag durch einen Schwamm gepumpt werden können. Noch besser funktionierte der Schwamm als klassischer Tiefenfilter mit über 99 Prozent Reinigungswirkung. Für ihre

Arbeiten wurde Patricia Risch, wissenschaftliche Assistentin in der Fachgruppe Funktionsmaterialien und Nanotechnologie, mit einem Preis am SCS Fall Meeting 2021 ausgezeichnet. ■

**Mehr zu BIOMAT:** [zhaw.ch/de/forschung/forschungsdatenbank/projekt/detail/projektid/2998/](http://zhaw.ch/de/forschung/forschungsdatenbank/projekt/detail/projektid/2998/)

**Publikation:** [pubs.acs.org/doi/10.1021/acsapm.1c00799](https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acsapm.1c00799)



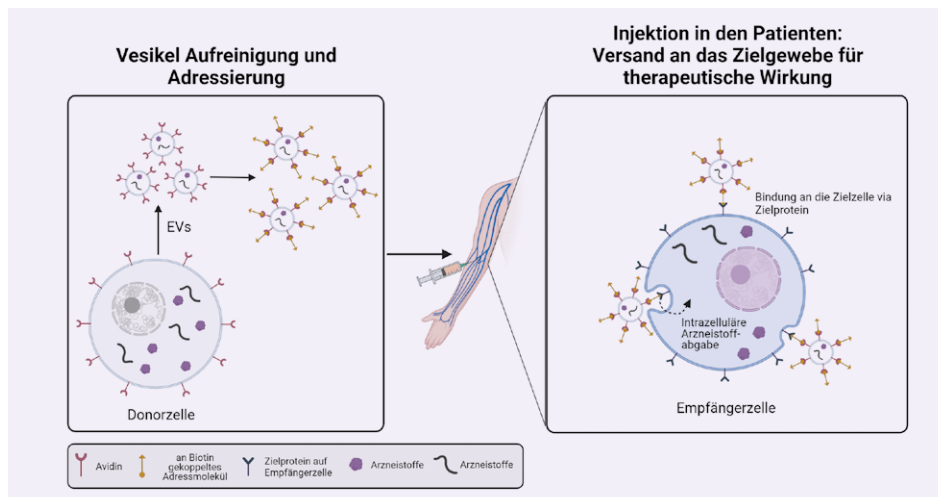
Ultraleichter Chitosan-Nanofaser-Schwamm getragen von den Blütenstempeln einer Sommerspiere. (Reprinted with permission from DOI: 10.1021/acsapm.1c00799. Copyright 2021 American Chemical Society.)

## Zellvesikel richtig adressieren für den Versand therapeutischer Ladung

**Dr. Steffi Lehmann**, Fachgruppenleiterin Pharmakologie/Pharmazeutische Technologie, [leht@zhaw.ch](mailto:leht@zhaw.ch)

Krankheiten zielgerichtet, ohne Nebenwirkungen behandeln – das wollte der Arzt Paul Ehrlich in seiner «Zauberkegeltheorie» schon vor über 100 Jahren. Noch heute suchen wir nach Strategien, Arzneistoffe geschützt und ohne Kollateralschäden am gesunden Gewebe zu ihrem Wirkort im Körper zu bringen. Eine Möglichkeit dafür bieten extrazelluläre Vesikel, kleine Membranpartikel, die von Zellen freigesetzt werden. Sie sind vollständig biokompatibel. Um sie für den Arzneistofftransport zu nutzen, müssen sie allerdings mit Adressmolekülen versehen werden, die sie zu ihren

Zielzellen dirigieren. Zusammen mit den Fachgruppen Medizinalchemie und Zellbiologie hat die Fachgruppe Pharmazeutische Technologie eine einfache Strategie dafür entwickelt, welche das kleine Protein Avidin und dessen starke Bindung an das Vitamin Biotin ausnutzt. Durch genetische Veränderung von Zellen, die therapeutische Vesikel produzieren, gelangt Avidin auf die Vesikeloberfläche und bietet eine flexible Anknüpfstelle für biotinylierte Adressmoleküle. Vesikel können so mitsamt therapeutischer Ladung an die richtige Adresse im Körper versandt werden. ■



## Neue Projekte

### Plants and Minerals in Byzantine Popular Pharmacy. A New Multi-disciplinary Approach

Dauer: 01.03.21 – 31.10.22

Projektpartner: Royal Holloway University of London, Kew Royal Botanic Gardens

### CarboPHOS – Phosphorrückgewinnung durch hydrothermale Karbonisierung von Schlämmen

Dauer: 01.05.21 – 30.04.22

Projektpartner: Antaco AG, Ostschweizer Fachhochschule OST, Abwasserverband Aarau und Umgebung AVAU

### Evaluation of Cafetto cleaning protocols for porta filter & automatic coffee machines

Dauer: 13.05.21 – 27.02.22

### CFD-Simulation zur Auslegung eines Extraktionsprozesses

Dauer: 31.05.21 – 29.09.21

### Virendiagnostik für Pflanzgut mit neuartiger Kopplungsstrategie

Dauer: 01.06.21 – 30.11.22

Projektpartner: FHNW, Bioreba AG

### Tumormikroumgebung 3D

Dauer: 31.08.21 – 30.08.22

### Bioakustisch konstruiertes Fibrostroma

Dauer: 01.09.21 – 31.08.22

Projektpartner: Procure Stiftung

### Muscle generator – The key to unlock scalable and affordable cultivated meat production

Dauer: 01.09.21 – 31.08.23

Projektpartner: Mirai Foods AG

### Entwicklung einer neuartigen Behandlung gegen pathologische Haut- und Sehnenkalzifizierung auf Basis eines Gasotransmitters

Dauer: 30.09.21 – 29.09.23

Projektpartner: Sulfiscoon SA, CHUV – Centre Hospitalier Universitaire Vaudois

### Weitere Projekte

[zhaw.ch/icbt/projekte](http://zhaw.ch/icbt/projekte)

## Weiterbildung

20.01.2022

**SMGP Kurs 7**

24.03.2022

**SMGP Kurs 8**

19.05.2022

**SMGP Kurs 1 Grundkurs in Engelberg**

### Infos und Anmeldung

[zhaw.ch/icbt/weiterbildung](http://zhaw.ch/icbt/weiterbildung)