

acib
**Austrian Centre of industrial
 Biotechnology**

Programm: COMET – Competence
 Centers for Excellent Technologies

Förderlinie: COMET-Zentrum (K2)

Projekttyp: Functionalisation of
 Drug Intermediates,
 01/2015 – 09/2017, single

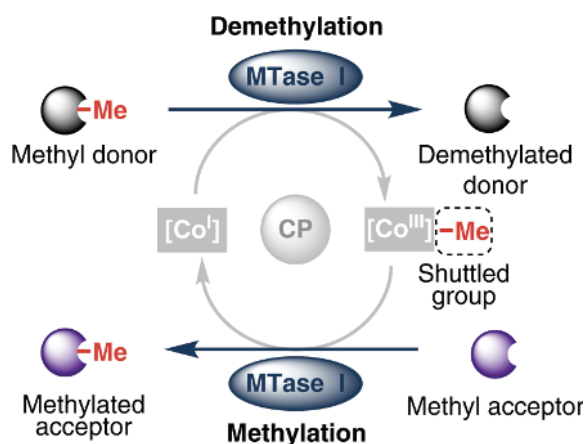


Abb. 1: Enzymatische Demethylierung des Methyl donors (schwarz) und Methylierung des Methylakzeptors (lila), die durch die Methyltransferase (MTase I, blau) und dem Corrinoid Protein (CP, grau) ermöglicht wird.
 Farnberger, J. E.; et al., *Communications Chemistry* 2018, 1, 82

BIOKATALYTISCHES KONZEPT FÜR DIE DEMETHYLIERUNG VON METHYLPHENYLETHER UND DEREN UMKEHRREAKTION

DIE COBALAMIN-ABHÄNGIGEN METHYLTRANSFERASEN KATALYSIEREN DIE REVERSIBLE BILDUNG UND SPALTUNG VON C-O-ETHER BINDUNGEN UNTER MILDEN BEDINGUNGEN.

Die Bildung und Spaltung von C-O-Ether Bindungen sind wichtig für die Synthese einer strukturellen Vielfalt an pharmazeutischen und natürlichen Produkten. Darüber hinaus sind O-methylierte Phenolderivate nützliche Bausteine in der Herstellung von Antioxidantien, Chemikalien sowie Geschmacks-, Duft- und Farbstoffen. Gerade in diesen Bereichen sind nachhaltige Methoden wichtig, da hier auch große Mengen umgesetzt werden. Ein nachhaltiges Verfahren reduziert die benötigten Chemikalien, was der Umwelt hilft. Zusätzlich wird das Produkt günstiger.

In der Natur kann das Bakterium *Desulfitobacterium dehafniense* aromatische Phenylether mithilfe von vier Enzymen demethylieren. Unser entwickeltes enzymatisches Konzept besteht aus nur einem

Corrinoid Protein (CP) mit einem Cobalamin als Cofaktor und einer Methyltransferase (MTase I, siehe **Abb. 1**). Im ersten Schritt wird dem Methyl donor durch die MTase I mittels des Corrinoid Proteins die Methylgruppe entzogen (demethyliert). Dabei nimmt das Cobalamin (Co I) die Methylgruppe vorübergehend auf und Kobalt wechselt in die Oxidationsstufe 3 Co(III). Im zweiten Schritt wird der Methylakzeptor methyliert und das Methylcobalamin wird wieder in den unbeladenen Ausgangszustand zurückgeführt (Co I). Durch das Arbeiten unter anaeroben Bedingungen mittels der Glovebox kann die Oxidation von Co I zum inaktiven Co II verhindert werden. Beide Reaktionsschritte sind reversibel und können je nach Überschuss an Donor oder Akzeptor in eine bestimmte Reaktionsrichtung gedrückt werden.

SUCCESS STORY

Das enzymatische System zeigte breite Anwendungsfelder: So konnten aromatische Substrate mit einer Hydroxygruppe in *ortho*-Position zur Methoxygruppe effizient demethyliert werden (>80% Umsatz, siehe **Abb. 2**, **1a**). Selbst Anisolderivate mit verschiedenen Substituenten wie Amin-, Hydroxymethyl-, Aldehyd- oder Carboxylgruppen wurden von der Methyltransferase akzeptiert. Einige Methylakzeptoren konnten bis zu 86% methyliert werden. Des Weiteren konnte die Regioselektivität des enzymatischen Systems durch die Zugabe von 10% Ethanol beeinflusst werden.

Die Ergebnisse dieses Projekts wurden am 15. November 2018 in einem hochrangigen Journal der Nature Gruppe *Communications Chemistry* publiziert. Zusätzlich gab es auf der Konferenz der BioCat2018 in Hamburg ein großes Interesse von Unternehmen, was zu Gesprächen über Kooperationen führte.

Wirkungen und Effekte

Diese Studie beweist eine alternative Methode für die Methylierung und Demethylierung unter nachhaltigen und umweltfreundlichen Bedingungen. In der Zukunft kann dieses Konzept (i) natürliche

Produkte modifizieren, (ii) Rückstände durch Nebenreaktionen oder Biomasse (z.B. Lignin) wiederverwerten, (iii) demethylierte Produkte entschütten oder Produkte methylieren, um chemisch modifizierte Substanzen zu erschaffen (z.B. neue Pharmazeutika).

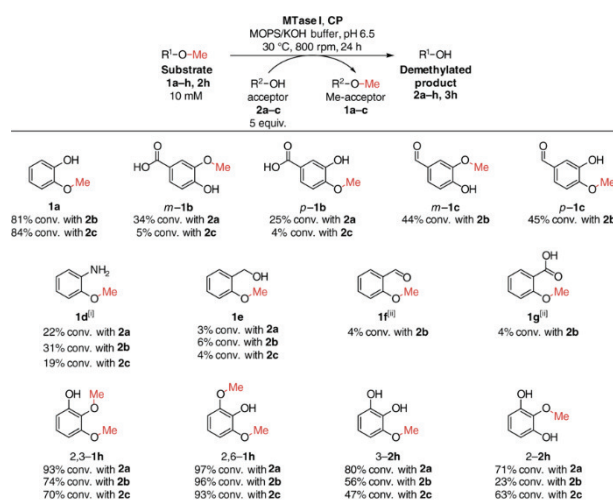


Abb. 2: Substratspektrum von verschiedenen Methylphenylethern als Methylendonoren, die von der Cobalamin abhängigen Methyltransferase umgesetzt wurden. Quelle: Farnberger, J. E.; *et al.*, *Communications Chemistry* **2018**, *1*, 82.

Projektkoordination (Story)

Univ.-Prof., Wolfgang Kroutil
Projektleiter
Universität Graz

T +43 (0) 316 – 380 5350
wolfgang.kroutil@acib.at

acib GmbH
Petersgasse 14
8010 Graz
office@acib.at
www.acib.at

Projektpartner

- Universität Graz, Österreich
- Sandoz GmbH, Österreich

Diese Success Story wurde von der Zentrumsleitung/ der Konsortialführung und den genannten Projektpartnern zur Veröffentlichung auf der FFG Website freigegeben. Weitere Informationen zu COMET: www.ffg.at/comet