



Doctoral Thesis

Biocatalytic synthesis of 3-substituted catechols

Author(s):

Held, Martin; Baltes, Henry

Publication Date:

2000

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-004064740> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

Diss. ETH No. 13762

BIOCATALYTIC SYNTHESIS OF 3-SUBSTITUTED CATECHOLS

A dissertation submitted to the

SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH

for the degree of
Doctor of Natural Sciences

Presented by

Martin Held

Dipl. Biol. (technisch orientiert) University of Stuttgart

born June 12, 1966

citizen of Germany

Accepted on the recommendation of

Prof. B. Witholt, examiner

Prof. H. Baltes, co-examiner

Prof. D. Hilvert, co-examiner

Dr. H.-P. E. Kohler, co-examiner

Dr. M. G. Wubbolts, co-examiner

Prof. M. Aebi, chairman

Zurich, 2000

SUMMARY

Catechols are versatile building blocks for the pharmaceutical and chemical industry but the chemical synthesis of 3-substituted catechols is cumbersome. However, the recombinant biocatalyst *E. coli* JM101 (pHBP461) could be successfully used to synthesize seven different 3-substituted catechols from the corresponding 2-substituted phenols with high regioselectivity on the laboratory scale (3 L).

Limited product stability and educt and product inhibitory effects required the development of a tailored process concept. Starting material concentrations were kept at subtoxic levels (< 0.2 g/L) by an optimized feed regime and products were continuously removed from the reaction liquid and stabilized by solid phase extraction. Under optimal conditions both starting material and product concentrations could be kept close to zero, but productivities reached 0.5 g/L/h and final product yields amounted on 4 g/L.

Biocatalyst suspensions could be used repeatedly, because cells were still viable after one production cycle. Therefore, one batch of cells could be used for the production of more than one product. Turn-around time for reactor cleaning and preparation, media sterilization, seed, and biocatalyst synthesis could be reduced.

Recovery of the products was optimal by eluting the solid phase with acidified methanol or ethanol. Key steps for product polishing included aluminum oxide chromatography or digestion (recrystallisation) in hexane. All products were purified to >98 % homogeneity and the product structures were verified by spectroscopic methods.

The synthesis of 3-phenylcatechol was scaled up to 300 L. A pilot-reactor was customized to allow continuous product extraction by solid phase adsorption. As a result 1 kg of 3-phenylcatechol was biocatalytically produced with a yield of 83 % and an average productivity of approx. 0.4 g/L/h.

Seite Leer /
Blank leaf

ZUSAMMENFASSUNG

Brenzkatechine sind vielseitige Bausteine für die Verwendung in der chemischen und pharmazeutischen Industrie, aber die chemische Synthese 3-substituierter Brenzkatechine ist aufwendig. Auf dem Labormassstab (3 L) konnte der rekombinante Biokatalysator *E. coli* JM101 (pHBP461) erfolgreich zur regioselektiven Synthese sieben verschiedener Brenzkatechine aus den korrespondierenden 2-substituierten Phenolen eingesetzt werden.

Produktinstabilität und Edukt- und Produktinhibitionseffekte erforderten die Entwicklung eines massgeschneiderten Prozesskonzepts: Die Reaktionsprodukte wurden der Reaktionslösung kontinuierlich durch Extraktion mit einem Adsorberharz entzogen und so stabilisiert, die Eduktkonzentrationen wurden durch eine optimierte Fütterungsstrategie auf subtoxischen Konzentrationen (< 0.2 g/L) gehalten. Unter optimalen Bedingungen konnten die Edukt- und Produktkonzentrationen nahe Null gehalten, aber Produktivitäten von 0.5 g/L/h erreicht werden.

Da die Biokatalysatoren nach einem Produktionszyklus immer noch aktiv waren, konnten die Zellsuspensionen mehrfach verwendet werden. Deshalb konnte mit einem Batch mehr als ein Produkt hergestellt werden. Die Vorbereitungszeit für Reaktorsäuberung und –beschickung, Mediensterilisation, Anzucht und Biokatalysatorsynthese wurde reduziert.

Zur Produktisolation wurden die Adsorberharze mit angesäuertem Methanol oder Ethanol eluiert. Schlüsseltechniken zur Produktaufarbeitung waren Aluminiumoxid-Chromatographie oder Digerierung (Rekristallisation) mit Hexan. Die Authentizität aller Produkte wurde mit spektroskopischen Methoden verifiziert.

Die Synthese von 3-Phenylbrenzkatechin wurde auf dem 300 L Massstab durchgeführt. Ein Pilotreaktor wurde so umgerüstet, dass er zur Synthese mit integrierter, kontinuierlicher Produktextraktion durch Festphasenadsorption eingesetzt werden konnte. Auf diese Weise wurde 1 kg 3-Phenylbrenzkatechin bei einer durchschnittlichen Produktivität von ca. 0.4 g/L und einer Ausbeute von 83 % biokatalytisch dargestellt.