

Trägermaterialien für die präparative Enantiomertrennung: Immobilisierung von Aminosäuren an Eupergit® C 250 L

R. Ding, H.-J. Danneel

Einleitung:

Die meisten D-Aminosäuren kommen nicht in größeren Mengen natürlich vor, und können technisch nur aus einem chemisch synthetisierten oder aus L-Aminosäure erzeugten Racemat gewonnen werden. Die Gewinnung erfolgt nach dem Stand der Technik durch selektive Verstoffwechslung des L-Enantiomerenanteils aus dem Racemat mit Mikroorganismen, und Gewinnung der D-Enantiomeren aus der Umsatzlösung. Die Verfahren erfordern einen hohen Rohstoffeinsatz und technischen Aufwand, und sind daher wirtschaftlich nachteilig.

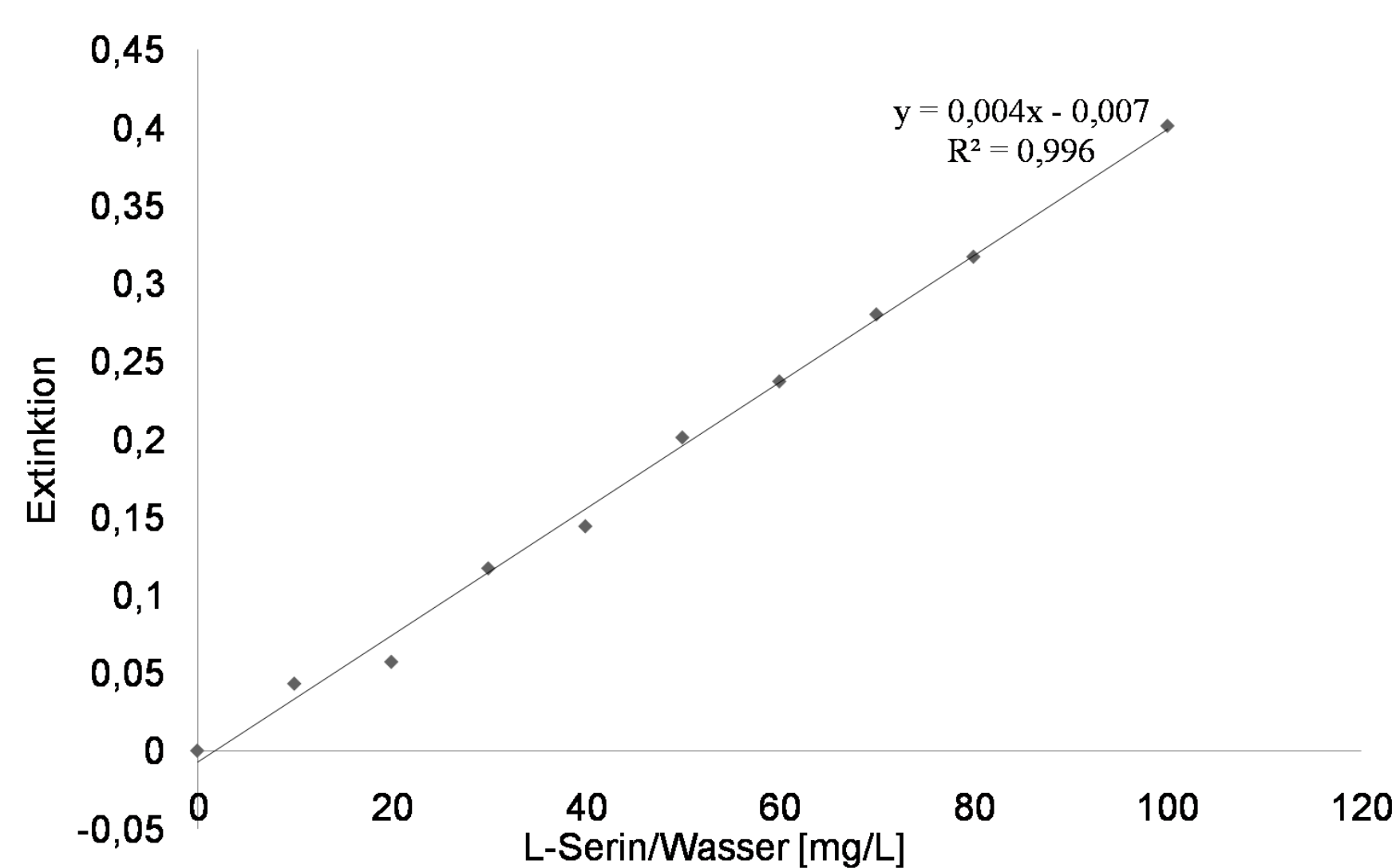
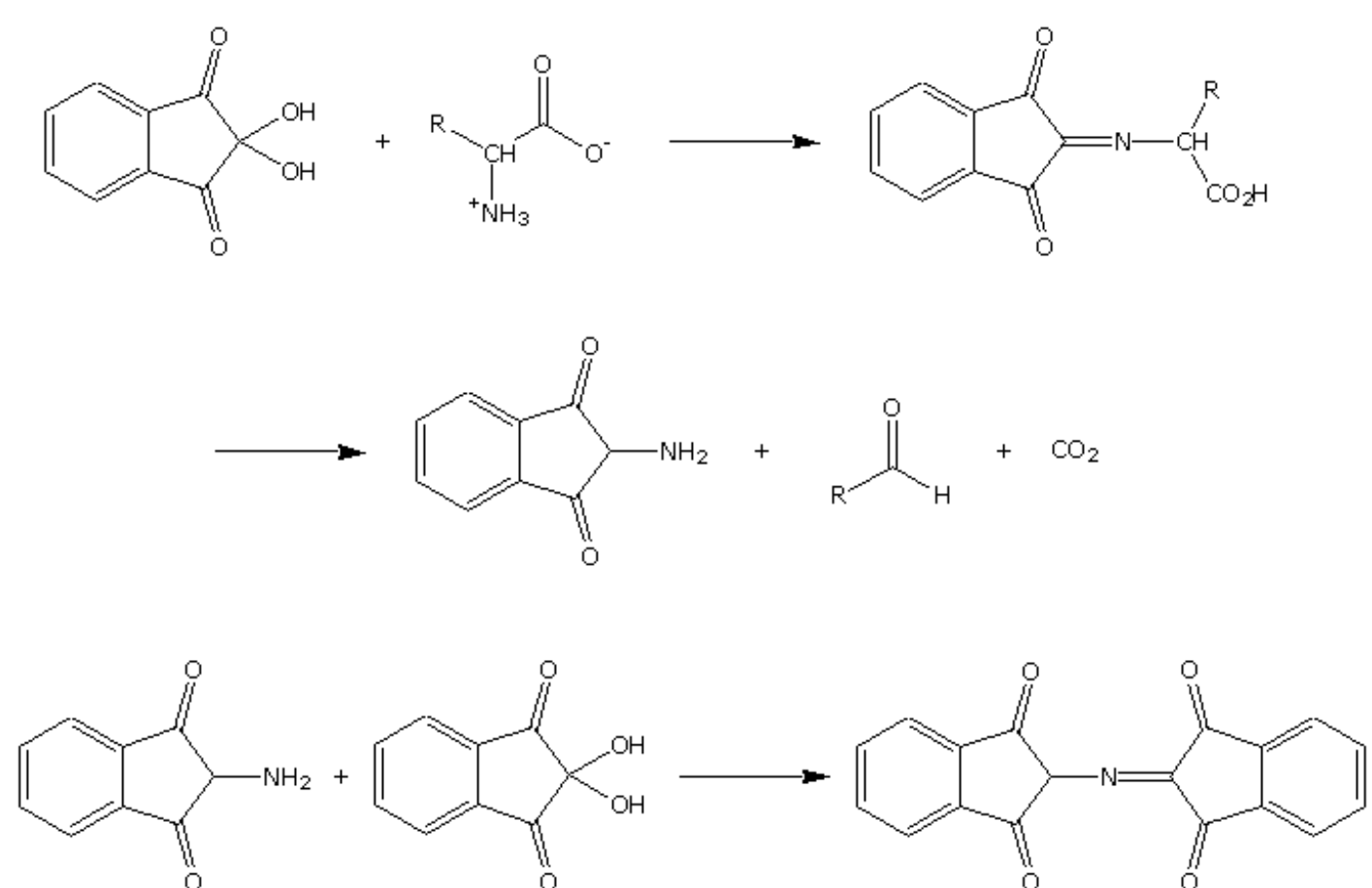
Chromatographische Methoden für die enantioselektive Trennung von Aminosäuren haben sich in den letzten zwei Jahrzehnten stark verbreitet. Dabei hat sich die HPLC als eine der wichtigsten Methoden für die Trennung von Enantiomeren herausgestellt, ist aber nur im analytischen Bereich einsetzbar. Eine technische chromatographische Trennung ist bis heute mangels geeigneter Festphasen nicht möglich.

Ziel des Projektes ist die Gewinnung enantiomerenreiner Aminosäuren über ein chromatographisches Verfahren, dass aus dem Labormaßstab durch Scale-up auf einen industriellen Einsatz übertragen werden kann. Das Verfahren soll am Beispiel der Aminosäure Serin erarbeitet werden.

Etablierung der notwendigen Analysemethoden:

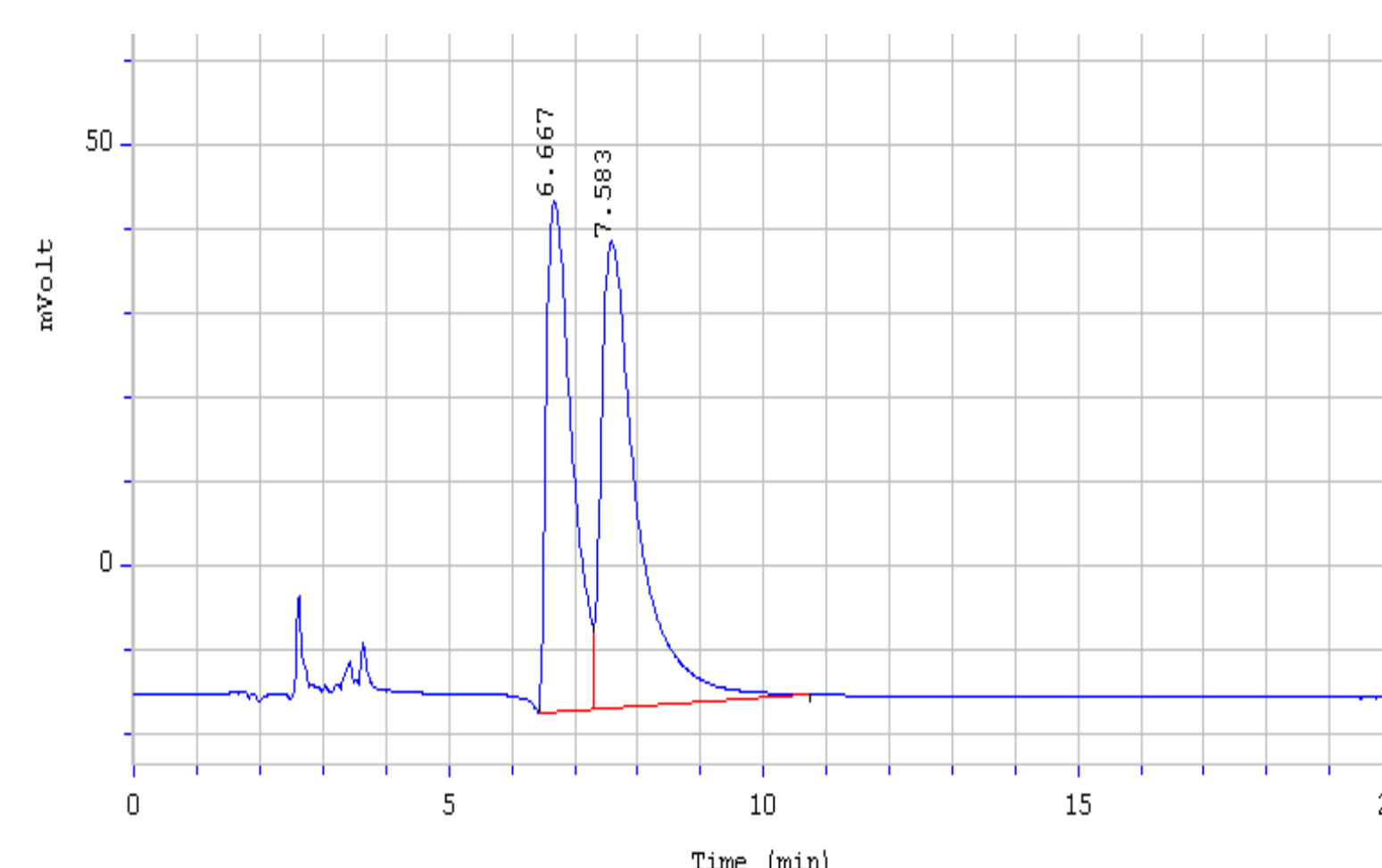
Für die analytische Verfolgung der vorgesehenen chiralen Trennungen wurden als Analysemethoden eine photometrische Gesamt-Aminosäurebestimmung, eine chirale HPLC-Methode, und eine polarimetrische Bestimmungsmethode etabliert.

Ninhydrinanalytik zur Aminosäurebestimmung: Zugrunde liegende Reaktion und Linearität der Methode

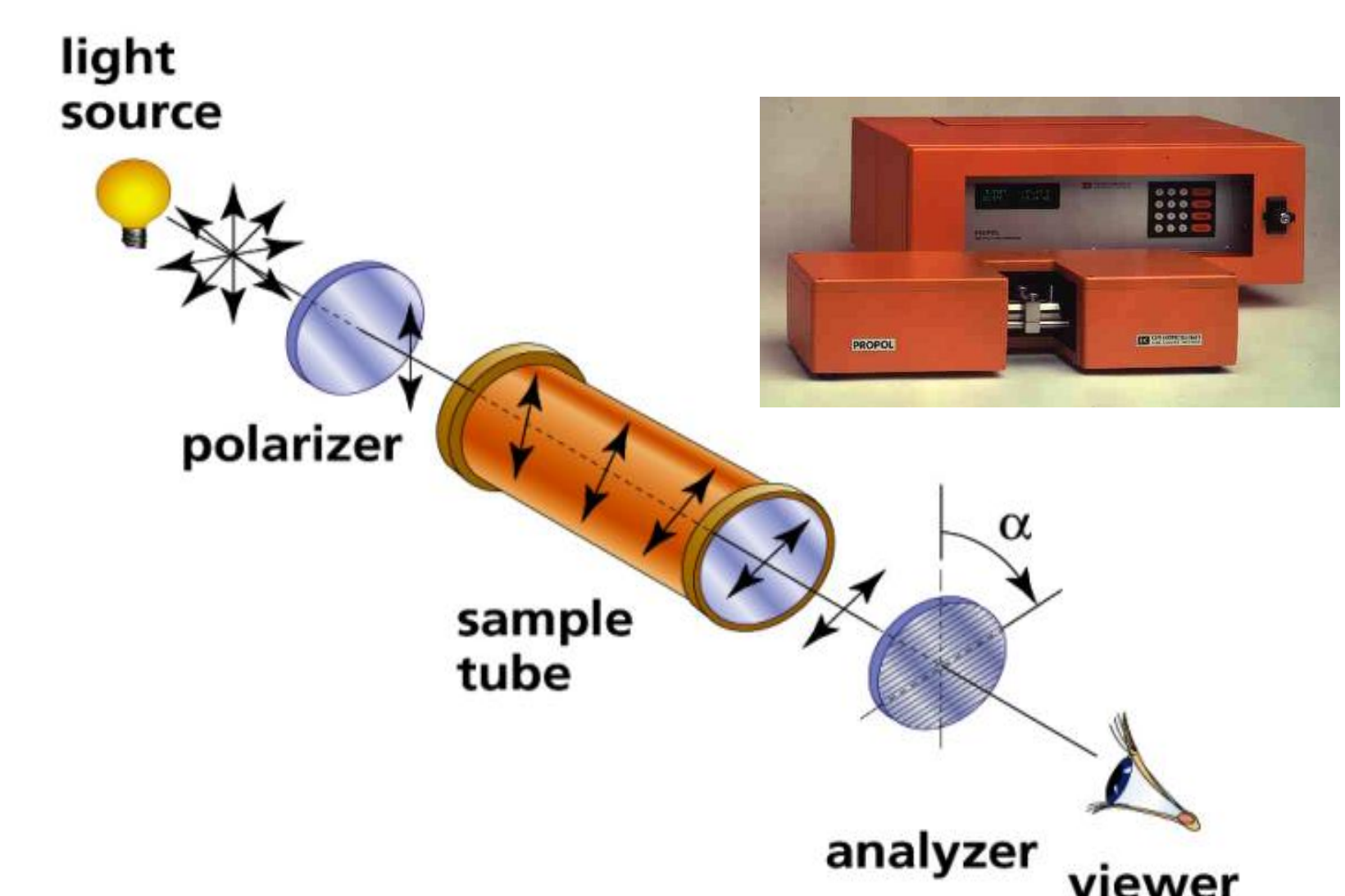


HPLC Methode zur Serin-Bestimmung: Methode und Messergebnis

Säule:	CHIROBIOTIC TAG 5µm
Säulen Dimension:	250 × 4,6mm
Mobile Phase:	30:70, Wasser: Acetonitril
Probenvorbereitung:	50mg in 10ml Wasser mit Methanol 1:1
Injektion Volume.:	20µl
Säulen Temperatur:	Raumtemperatur
Wellenlänge:	210nm
Fluss:	1ml/min
Laufzeit:	20min



Polarimetrische Serinanalytik: Prinzip der Methode und Ergebnisse

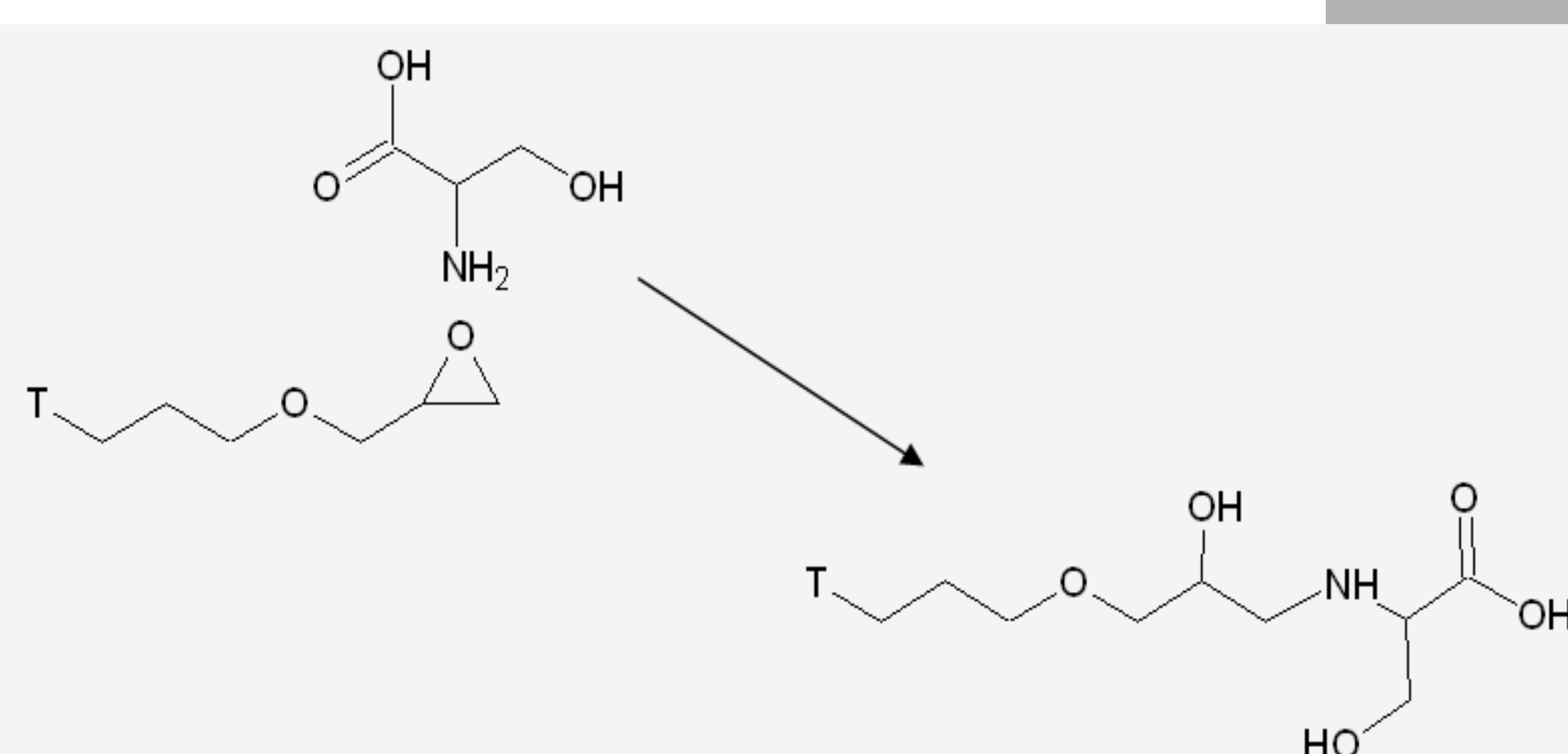


Probe. Nr	Name	Hersteller	M	α_{gemessen}	$[\alpha]$
1.	L-Serin	unbekannt	1,0000	0,2843	14,22
2.	L-Serin	Calbiochem	1,0018	0,2908	14,54
3.	D-Serin	molekula	1,0024	-0,2784	-13,92
4.	D-Serin	Alfa Aesar	1,0044	-0,2791	-13,96
5.	DL-Serin	molekula	1,0061	0,0001	0,50
6.	DL-Serin	Merck	1,0038	-0,0005	0,25

Immobilisierung von L-Serin an Eupergit:

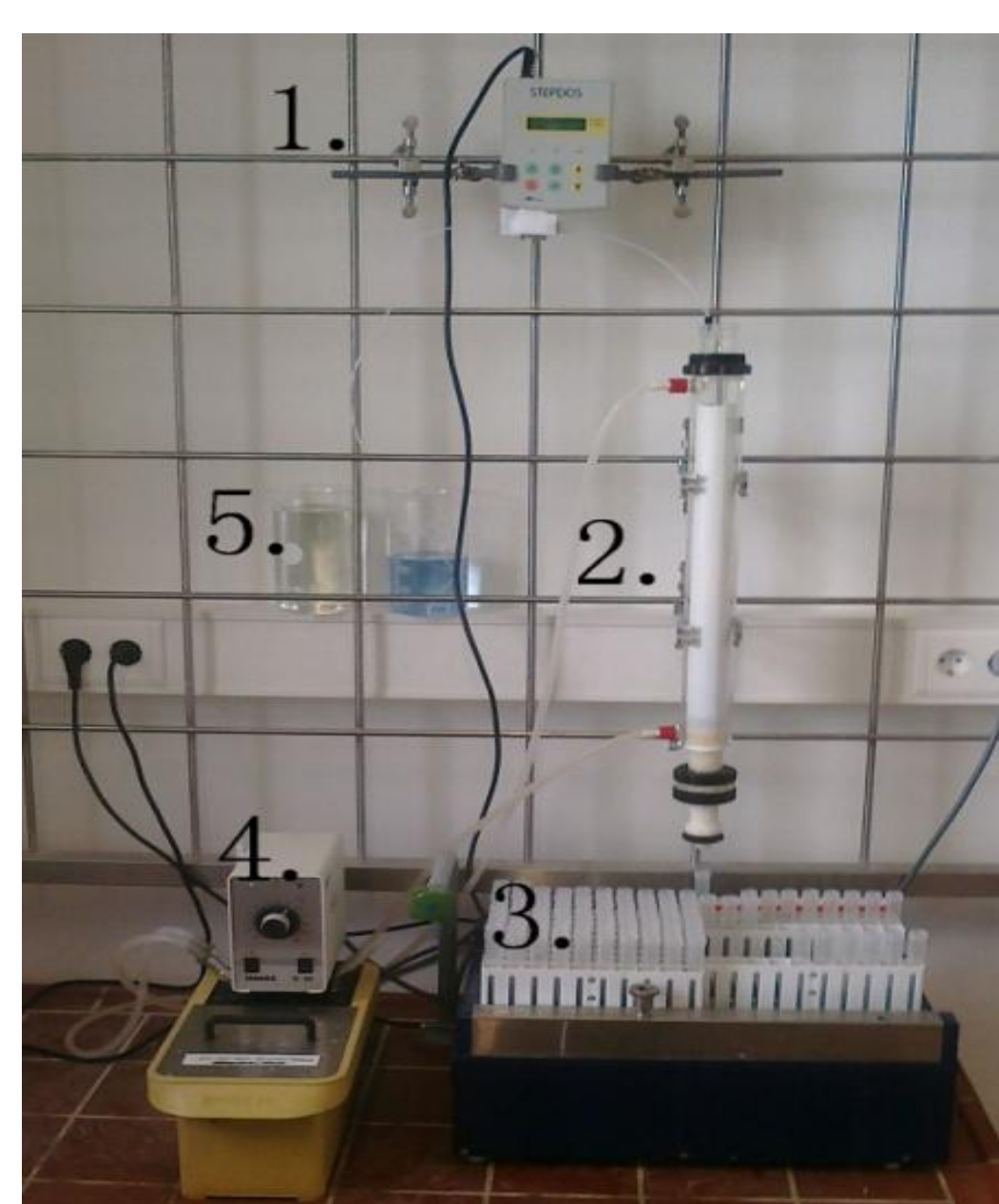
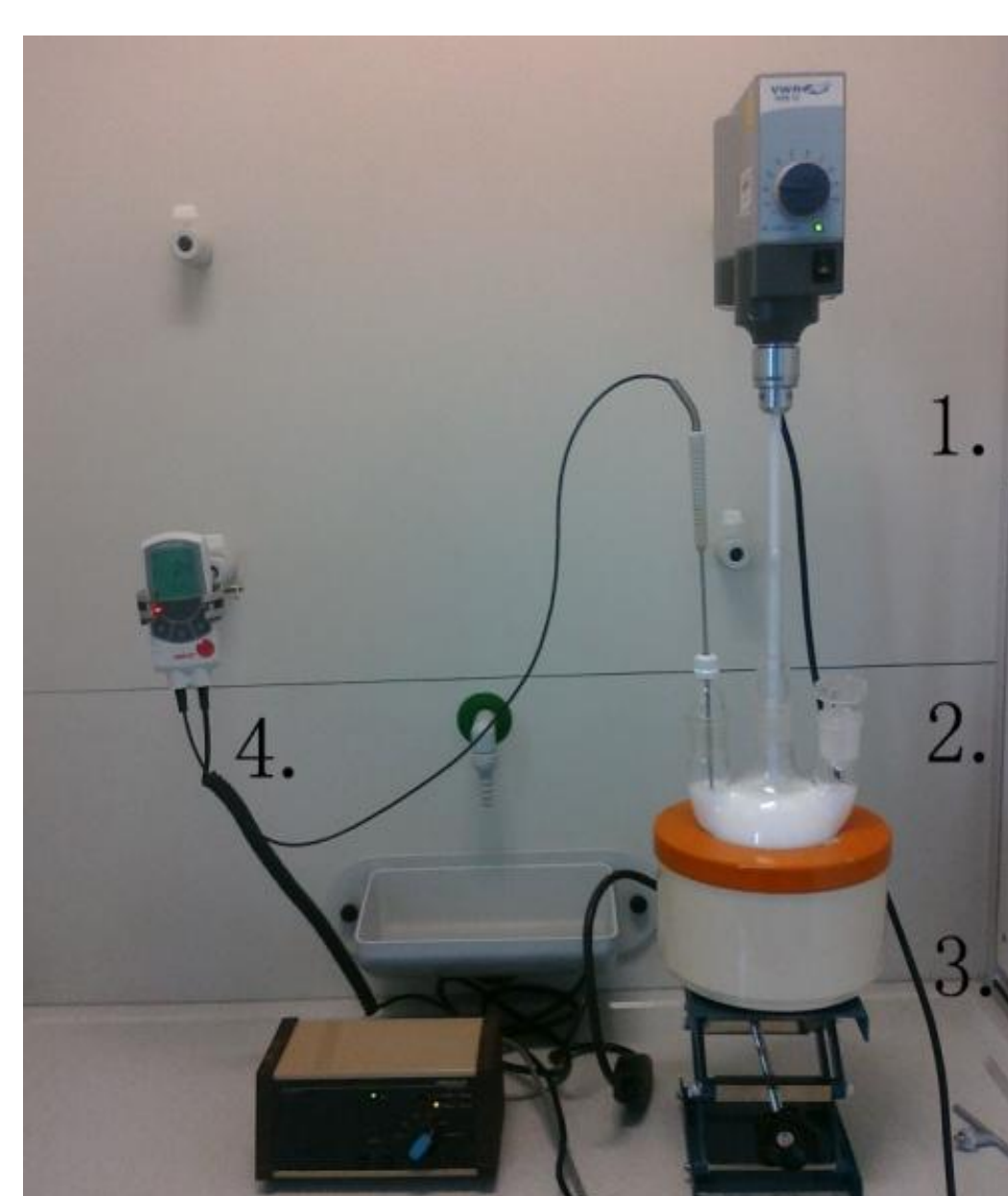
Es sollte überprüft werden, ob L-Serin nach dem Prinzip der komplementären Bindung aus einem Enantiomergemisch selektiv von trägerfixiertem L-Serin zurückgehalten werden kann. Für die Trägerfixierung wurde zunächst ein kommerziell verfügbares Polyacrylat verwendet, das durch seine Belegung mit Epoxidgruppen in der Lage ist, aminofunktionalisierte Verbindungen selektiv zu binden.

Bei dem verwendeten Eupergit C 250L handelt es sich um einen porösen Methacrylat Kunststoff mit oberflächlicher Funktionalisierung durch Epoxid-Gruppen. Über diese Epoxid-Gruppen können Liganden mit nucleophilen Gruppen (-NH₂, -SH und OH-Gruppen) kovalent an die Polymermatrix gebunden werden.:



Beste erarbeitete Immobilisierungsbedingungen sind:
 Immobilisierungszeit: **minderst. 24h**
 Immobilisierung Temperatur: **RT**
 Immobilisierungslösungsmittel: **Natriumcarbonat 0,1mol/L Lösung oder Methanol**

Agitation im Schüttler (kein Magnetrührer!)



Abbildungen links:

Reaktionsapparatur zur Serinimmobilisierung an Eupergit (oben)
 Chromatographiesäule mit Eupergit fixiertem L-Serin (unten)

Abbildung unten:

Aminosäurenabnahme im Reaktionsüberstand. Bei verschiedenen Bedingungen. Die Abnahmegeschwindigkeit ist anfangs sehr schnell, dann langsamer. Nach 50h verbleibt ein Restanteil von ca. 40%, das bedeutet 60% der Aminosäuren sind mit Epoxygruppen verbunden.

