

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
13. Januar 2011 (13.01.2011)



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 2011/003607 A2

(51) Internationale Patentklassifikation:
C07C 29/76 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2010/004155

(22) Internationales Anmeldedatum:
7. Juli 2010 (07.07.2010)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
10 2009 032 080.6 7. Juli 2009 (07.07.2009) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): SÜD-CHEMIE AG [DE/DE]; Lenbachplatz 6,
80333 München (DE).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): SUCK, Kirstin
[DE/DE]; Prösslstrasse 6, 81545 München (DE). SOH-
LING, Ulrich [DE/DE]; Alte Poststraße 49, 85356 Frei-
sing (DE). RUF, Friedrich [DE/DE]; Schlossfeld 7,
84184 Ast (DE). LIESE, Andreas [DE/DE]; Hainholz-
weg 153, 21077 Hamburg (DE). GOLDBERG, Katja
[DE/DE]; Auf dem Sudberg 11a, 44536 Lünen (DE). BU-
BENHEIM, Paul [DE/DE]; Huusberg 56, 22359 Ham-
burg (DE).

(74) Anwälte: REMBOLD, Hansjörg et al.; Stolzmar, Scheele
& Partner, Blumenstrasse 17, 80331 Munich (DE).

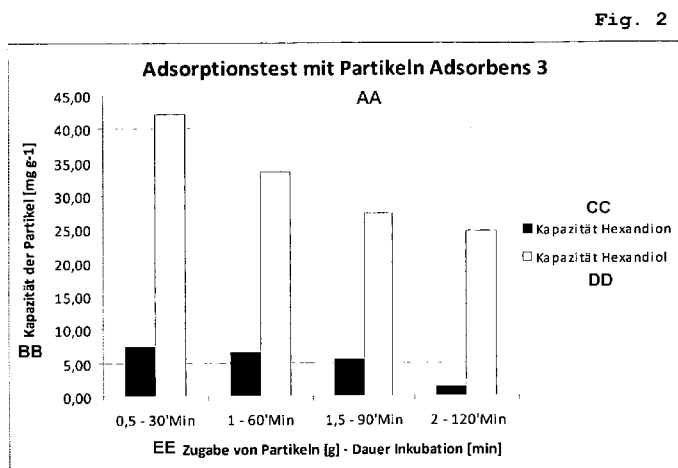
(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BR, BW, BY,
BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM,
DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KM, KN,
KP, KR, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LY, MA,
MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA, NG,
NI, NO, NZ, OM, PE, PG, PH, PL, PT, RO, RS, RU, SC,
SD, SE, SG, SK, SL, SM, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN,
TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, ZA, ZM, ZW.

(84) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare regionale Schutzrechtsart): ARIPO (BW,
GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ,
UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD,
RU, TJ, TM), europäisches (AL, AT, BE, BG, CH, CY,
CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS,
IT, LT, LU, LV, MC, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO,
SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: METHOD FOR SEPARATING ALCOHOL-KETONE MIXTURES

(54) Bezeichnung : VERFAHREN ZUR AUFTRENNUNG VON ALKOHOL-KETON-GEMISCHEN



AA Adsorption test with particles of adsorbent 3
BB Capacity of the particles
CC Capacity of hexandione
DD Capacity of hexandiol
EE Addition of particles [g] - Incubation duration [min]

(57) Abstract: The invention relates to a method for separating a mixture having a first compound dissolved in a solvent, which first compound comprises at least one keto group, and having a second compound, which comprises a chiral carbon atom with a hydroxyl group, which was yielded from the stereoselective reduction of the keto group from the first compound. The mixture is brought into contact with an inorganic adsorber material and at least part of the second compound is adsorbed on the inorganic adsorber material, and a mixture depleted in the second compound is separated from the inorganic adsorber material.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Auftrennung einer Mischung mit einer in einem Lösungsmittel gelösten ersten Verbindung, welche zumindest eine Keto-Gruppe umfasst, und einer zweiten Verbindung, welche ein chirales Kohlenstoffatom mit einer Hydroxygruppe umfasst, die durch stereoselektive Reduktion der Ketogruppe aus der ersten Verbindung entstanden ist, wobei die Mischung mit einem anorganischen Adsorbermaterial in Kontakt gebracht wird und zumindest

ein Teil der zweiten Verbindung an dem anorganischen Adsorbermaterial adsorbiert wird, und eine an der zweiten Verbindung angereicherte Mischung von dem anorganischen Adsorbermaterial abgetrennt wird.

WO 2011/003607 A2



Veröffentlicht:

- *ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu veröffentlichen nach Erhalt des Berichts (Regel 48 Absatz 2 Buchstabe g)*

Verfahren zur Auftrennung von Alkohol-Keton-Gemischen

5

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zur Auftrennung einer Mischung mit einer in einem Lösungsmittel gelösten ersten Verbindung, welche zumindest eine Ketogruppe umfasst, sowie einer zweiten Verbindung, welche ein chirales Kohlenstoffatom mit einer Hydroxygruppe umfasst, die durch Reduktion der Ketogruppe aus der ersten Verbindung entstanden ist.

Chirale Hydroxyverbindungen sind wertvolle Synthesebausteine zur Herstellung pharmazeutisch aktiver Verbindungen. Chirale Verbindungen lassen sich durch klassische chemische Verfahren meist nur schwer enantiomerenrein herstellen. Sofern bei einem Syntheseschritt beide Enantiomere entstehen, müssen diese anschließend durch komplexe Trennungsvorgänge unter Verwendung optisch aktiver Hilfsstoffe aufgetrennt werden. Zur Herstellung chiraler Verbindungen versucht man daher biotechnologische Verfahren anzuwenden, wobei die Stereoselektivität enzymatischer Reaktionen genutzt wird. Dabei können sowohl vollständige Mikroorganismen verwendet werden als auch vollständig oder teilweise gereinigte isolierte Enzyme.

Für die enzymatische Synthese chiraler Alkohole können verschiedene Wege beschritten werden. Beispiele geeigneter Enzyme sind Oxireduktasen, Hydrolasen, sowie Lyasen. K. Goldberg, K. Schroer, S. Lütz und A. Liese, Appl. Microbiol.

Biotechnol. (2007) 76:237-248 geben einen Überblick über Verfahren zur Herstellung chiraler Alkohole unter Verwendung isolierter Enzyme.

Stereoselektive Synthesen können auch unter Einsatz

5 vollständiger Mikroorganismen durchgeführt werden, wie Bakterien oder Pilzen. Bei dieser Reaktionsführung kann der Metabolismus der Zellen für eine interne Regenerierung des Cofaktors genutzt werden. Eine Übersicht über den Einsatz vollständiger Zellen zur Reduktion von Ketonen zu chiralen
10 Alkoholen geben K. Goldberg, K. Schroer, S. Lütz und A. Liese in Appl. Microbiol. Biotechnol. (2007) 76:249-255.

Enzyme aus der Klasse der Oxireduktasen katalysieren

Redoxreaktionen, das heißt Reaktionen bei denen Elektronen zum oder vom Substrat übertragen werden. Zur Gruppe der
15 Oxireduktasen gehören unter Anderen die Alkoholdehydrogenasen (ADH), welche auch als Carbonylreduktasen (CR) bezeichnet werden. Alkoholdehydrogenasen katalysieren zum Beispiel die Reduktion prochiraler Ketone zu chiralen Alkoholen.

Die meisten Alkoholdehydrogenasen sind abhängig von den Redox-

20 Cofaktoren β -1,4-Nicotinamidadenindinukleotid (NADH) bzw. β -1,4-Nicotinamidadenindinukleotidphosphat (NADPH), die bei der enzymatischen Reduktion stöchiometrisch verbraucht werden. Ein stöchiometrischer Einsatz dieser Cofaktoren ist wegen der hohen Preise unwirtschaftlich. Die enzymatische Reaktion wird
25 daher meist so geführt, dass der Cofaktor in einer weiteren enzymkatalysierten Reaktion durch Oxidation eines Cosubstrats regeneriert wird. Ein Cosubstrat ist dabei eine Verbindung, die als Reduktionsmittel enzymatisch oxidiert wird, wobei die dabei freigesetzten Elektronen auf NAD bzw. NADP übertragen
30 werden, die dabei zu NADH bzw. NADPH regeneriert werden.

Um in industriellen Prozessen die eingesetzten Enzyme effizienter nutzen zu können und damit die Kosten zu senken, können die Enzyme auch zurückgewonnen werden, um so in einer weiteren Reaktion eingesetzt werden zu können.

- 5 In der EP 1 568 780 B1 wird ein Verfahren zur enantioselektiven Reduktion von Ketoverbindungen durch Enzyme beschrieben. Dabei wird die Ketoverbindung zunächst in einem wässrigen Reaktionsmedium, welches neben Wasser ein Reduktionsmittel, Alkoholdehydrogenase und Coenzym enthält, zu
10 einem sekundären Alkohol reduziert. Die Reaktion wird unter vermindertem Druck durchgeführt, sodass leicht flüchtige Bestandteile aus dem Reaktionssystem entfernt werden können. Die wässrige Phase wird dann mit einem nicht mit Wasser mischbaren organischen Lösungsmittel extrahiert, sodass der
15 gebildete sekundäre Alkohol aus der wässrigen Phase in die organische Phase übergeht. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase wiederverwendet und für den nächsten Reaktionszyklus erneut mit Ketoverbindung sowie gegebenenfalls Reduktionsmittel, Enzym und Coenzym versetzt.
- 20 Enzymatische Reaktionen sind Gleichgewichtsreaktionen, das heißt es stellt sich im Laufe der Reaktion ein thermodynamisches Gleichgewicht ein. Werden ganze Zellen für die Reaktion eingesetzt, kann das Produkt auch für die Zelle toxisch sein. Übersteigt die Konzentration des Produkts im
25 Ansatz also einen bestimmten Wert, sterben die Zellen ab. In beiden Fällen kommt daher die Reaktion nach einer Anfangsphase zum Erliegen. Um eine Desaktivierung bzw. eine Reduzierung der Syntheseaktivität zu vermeiden, besteht die Möglichkeit, das Produkt *in situ* aus der Reaktionsmischung zu entfernen, sodass
30 das Gleichgewicht auf die Seite des Produkts verschoben wird. Dies kann beispielsweise erfolgen, indem ein gasförmiges Produkt kontinuierlich aus der Reaktionsmischung entfernt wird oder ein Produkt kontinuierlich ausgefällt wird.

J.T. Vincenzi, M.J. Zmijewski, M.R. Reinhard, B.E. Landen, W.L. Muth und P.G. Marler, *Enzyme and Microbiol. Technology* 20:494-499, 1997 beschreiben eine stereoselektive enzymatische Reduktion eines Ketons, wobei der entstehende Alkohol *in situ* an einem polymeren Harz gebunden und damit aus dem Reaktionsgleichgewicht entfernt wird. Die Autoren beschreiben die Reduktion von 3,4-Methylenedioxyphenylaceton zu S-3,4-Methylenedioxyphenylisopropanol durch *Zygosaccharomyces rouxii*. Es wurden dabei vollständige Zellen eingesetzt. Die Ausbeute betrug mehr als 95 % bei einem Enantiomerenüberschuss (ee) von mehr als 99,9 %. Da sowohl das Substrat als auch das Produkt für die eingesetzten Zellen toxisch ist, werden hydrophobe Polymerharze eingesetzt, welche mit dem Substrat beladen wurden. Das an der festen Polymerphase gebundene Substrat steht im Gleichgewicht mit der wässrigen Phase, in welcher die Zellen bereitgestellt werden. Die geringe Menge an in der Wasserphase gelöstem Substrat wird von den Zellen zum entsprechenden optisch aktiven Alkohol reduziert, welcher dann wieder an der festen Harzphase gebunden wird. Auf diese Weise kann eine niedrige konstante Konzentration des Substrats bzw. des Produkts in der Wasserphase eingestellt werden, wobei insgesamt sehr hohe Ausbeuten am gewünschten Produkt erhalten werden. Nachteilig an diesem Verfahren ist, dass ein relativ teures Harz für die Abtrennung des Produkts eingesetzt wird. Dies ist insbesondere dann nachteilig, wenn der chirale Alkohol für die Synthese eines Produkts eingesetzt wird, welches unter hohem Kostendruck steht, beispielsweise Produkte für die Agrarindustrie oder Zwischenstufen in der chemischen Industrie. Weiterhin muss das verwendete Harz auf die jeweilige Reaktion abgestimmt werden, sodass eine stark bevorzugte Adsorption des Alkohols und damit eine hohe Konzentration des verbleibenden Ketons in der Reaktionsmischung erreicht wird.

Eine weitere Möglichkeit, die Kosten für eine enzymatisch katalysierte Reaktion zu verringern, besteht darin, das Enzym an ein Adsorptionsmittel zu binden, welches nach dem Ende einer Reaktion aus der Reaktionsmischung abgetrennt und in
5 einem weiteren Ansatz eingesetzt werden kann. In der DE 10 2006 010 994 A1 wird ein Verfahren zur enzymatischen Herstellung von chiralen Alkoholen beschrieben, wobei der Reaktionsansatz ein Adsorbens enthält, welches mit einer Oxireduktase assoziiert ist und welches nach dem Ende der
10 Umsetzung vom Reaktionsansatz abgetrennt wird. In den Beispielen wird Kieselgur (Celite®) als Adsorbens für das Enzym eingesetzt. Nach Filtration der Reaktionsmischung kann der Filterkuchen in einen weiteren Ansatz gegeben werden und dort erneut für die Katalyse einer Reduktion eines Ketons zu einem
15 optisch aktiven Alkohol eingesetzt werden.

Die oben beschriebenen, aus dem Stand der Technik bekannten Verfahren verwenden relativ teure Komponenten für die Synthese. Solche Verfahren sind daher nur dann gerechtfertigt, wenn die optisch aktiven Alkohole, welche bei der Reaktion
20 erhalten werden, für die Synthese sehr teurer Stoffe eingesetzt werden. Sofern daher chirale Alkohole für die Herstellung von Produkten verwendet werden sollen, welche unter einem hohen Kostendruck stehen, sind die geschilderten Verfahren an sich nicht geeignet.

25 Der Erfindung lag daher die Aufgabe zugrunde, ein Verfahren zur Auftrennung einer Mischung aus einem Keton und einem aus dem Keton durch Reduktion erhaltenen optisch aktiven Alkohol zur Verfügung zu stellen, welches einfach und kostengünstig durchgeführt werden kann.

30 Diese Aufgabe wird mit einem Verfahren mit den Merkmalen des Patentanspruchs 1 gelöst. Vorteilhafte Ausführungsformen des Verfahrens sind Gegenstand der abhängigen Ansprüche.

Der Erfindung lag die Beobachtung zugrunde, dass Ketone weniger stark von anorganischen Adsorbentien gebunden werden als Alkohole. Anorganische Adsorbentien stehen im Allgemeinen kostengünstig und in großer Menge zur Verfügung. Das Verfahren
5 kann daher auch sehr leicht an industrielle Maßstäbe angepasst werden, ohne dass ein hoher Kostendruck durch die Bereitstellung des anorganischen Adsorptionsmittels ausgelöst wird. Das Verfahren eignet sich daher insbesondere auch für die Bereitstellung solcher optisch aktiver Alkohole, welche u.
10 a. als Bausteine für die Herstellung von Feinchemikalien beispielsweise für die chemische Industrie eingesetzt werden, wo die Gewinnmargen durch einen relativ hohen Konkurrenzdruck beschränkt werden.

Erfindungsgemäß wird ein Verfahren zur Auftrennung einer
15 Mischung mit einer in einem Lösungsmittel gelösten ersten Verbindung, welche zumindest eine Ketogruppe umfasst, und einer zweiten Verbindung, welche ein chirales Kohlenstoffatom mit einer Hydroxygruppe umfasst, die durch Reduktion der Ketogruppe aus der ersten Verbindung entstanden ist, zur
20 Verfügung gestellt, wobei die Mischung mit einem anorganischen Adsorbermaterial in Kontakt gebracht wird und zumindest ein Teil der zweiten Verbindung an dem anorganischen Adsorbermaterial adsorbiert wird, und eine an der zweiten Verbindung abgereicherte Mischung von dem anorganischen
25 Adsorbermaterial abgetrennt wird.

Das erfindungsgemäße Verfahren eignet sich also für die Auftrennung von Mischungen, wie sie typischerweise bei einer Reduktion einer prochiralen Ketoverbindung zu einem Alkohol erhalten werden. Die Reduktion wird in Lösung durchgeführt,
30 weshalb sowohl das Edukt als auch das Produkt in Lösung vorliegen. Die Reduktion wird dabei bevorzugt in der Weise durchgeführt, dass im Wesentlichen nur eines der Enantiomeren entsteht. Es ist daher nicht notwendig, an dem anorganischen

Adsorbermaterial eine Enantiomerentrennung vorzunehmen. Die Information über die Stereochemie, welche sich während der Reduktion am Kohlenstoffatom der Ketogruppe einstellt, wird also bereits während der Reduktion der Ketogruppe in die
5 zweite Verbindung eingebracht. Dabei ist es zunächst nicht erheblich, auf welche Weise die stereoselektive Reduktion erfolgt. Es ist also auch möglich, die Reduktion beispielsweise mit einem stereoselektiven Katalysator im Zuge einer üblichen Hydrierung durchzuführen, wobei über den
10 Katalysator die Information über die Stereochemie am Kohlenstoffatom der Ketogruppe eingeführt wird, beispielsweise durch Verwendung asymmetrischer Katalysatoren.

Bei der Reduktion bleibt das Kohlenstoffgerüst der ersten Verbindung im Wesentlichen erhalten, sodass sich bevorzugt
15 erste Verbindung und zweite Verbindung in ihrer Struktur nur am Kohlenstoffatom der Ketogruppe der ersten Verbindung, welche in einen optisch aktiven Alkohol überführt wird, unterscheiden. Bei der Reduktion wird eine möglichst hohe Stereoselektivität angestrebt. Bevorzugt weist die Mischung
20 einen Enantiomerenüberschuss zugunsten einer der beiden enantiomeren Alkohole von mehr als 98 %, bevorzugt mehr als 99 %, insbesondere bevorzugt mehr als 99,5 % auf.

Die Mischung, welche sowohl die erste Verbindung, also das Keton, als auch die zweite Verbindung, also den optisch
25 aktiven Alkohol, enthält, wird dann mit einem anorganischen Adsorbermaterial in Kontakt gebracht. Das anorganische Adsorbermaterial wird dabei so ausgewählt, dass es bevorzugt eine möglichst hohe Adsorptionskraft zugunsten des Alkohols, also der zweiten Verbindung besitzt. Beispielhafte
30 anorganische Adsorbermaterialien sind Aluminiumoxide, Aluminiumoxidhydrate, Bentonite, Kieselgele, Silikate, wie Alumosilikate, Magnesiumsilikate, Calciumsilikate und Hydrotalcite. Die Mischung wird so lange mit dem anorganischen

Adsorbermaterial in Kontakt gebracht, dass zumindest ein Anteil der zweiten Verbindung an dem anorganischen Adsorbermaterial adsorbiert wird und damit die Mischung an der zweiten Verbindung abgereichert wird. Die zweite Verbindung wird damit aus der Reaktion entfernt, sodass im Fall einer Gleichgewichtsreaktion das Gleichgewicht zugunsten des Produkts verschoben wird oder, falls das Produkt hemmend oder toxisch auf den Katalysator wirkt, aus der Reaktionsmischung entfernt wird.

Das Verfahren lässt sich insbesondere dann vorteilhaft einsetzen, wenn in der Reaktionsmischung ein Lösungsmittel verwendet wird, welches mit der zweiten Verbindung nicht um Adsorptionsplätze am anorganischen Adsorbermaterial konkurriert. Da Wasser ein sehr polares Lösungsmittel ist und daher sehr stark mit dem bei der Reduktion der Ketogruppe entstehenden Alkohol um Bindungsplätze am anorganischen Adsorbermaterial konkurrieren kann, wird das erfindungsgemäße Verfahren gemäß einer Ausführungsform bevorzugt in der Weise durchgeführt, dass als Lösungsmittel ein organisches Lösungsmittel verwendet wird. Insbesondere bevorzugt werden dabei organische Lösungsmittel eingesetzt, welche keine protonierbaren oder deprotonierbaren Gruppen aufweisen. Bevorzugt ist das organische Lösungsmittel so ausgewählt, dass es eine geringere Polarität aufweist als der bei der Reduktion entstehende Alkohol. Insbesondere bevorzugt werden Lösungsmittel verwendet, welche eine relativ geringe Polarität aufweisen. Solche Lösungsmittel zeichnen sich durch einen relativ niedrigen Siedepunkt bei Normaldruck aus. Bevorzugt werden organische Lösungsmittel eingesetzt, welche bei Normaldruck einen Siedepunkt von weniger als 90°C, bevorzugt weniger als 80°C, insbesondere bevorzugt weniger als 70°C aufweisen. Geeignete Lösungsmittel sind beispielsweise Ester, wie Essigsäureethylester, Ether, wie Methyl-t-butylether,

Alkane, wie Hexan oder Petrolether, oder auch aromatische Kohlenwasserstoffe, wie Toluol.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform werden als Lösungsmittel solche organischen Lösungsmittel verwendet, welche mit Wasser im Wesentlichen nicht mischbar sind. Als organische Lösungsmittel, welche mit Wasser im Wesentlichen nicht mischbar sind, werden bevorzugt solche organische Lösungsmittel verwendet, welche bei 20°C und Normaldruck weniger als 5 Gew.-% bevorzugt, weniger als 2 Gew.-%, besonders bevorzugt weniger als 1 Gew.-%, insbesondere weniger als 0,5 Gew.-% Wasser aufnehmen. Sofern bei dieser Ausführungsform die Mischung größere Mengen an Wasser enthält, bilden sich daher zwei Phasen aus, wobei die Reduktion der Ketogruppe zur chiralen Hydroxygruppe im Wesentlichen in der organischen Phase stattfindet. Auf diese Weise kann das erfindungsgemäße Verfahren auch die Umsetzung polarer Verbindungen als Reaktionspartner umfassen, welche sich nur in der Wasserphase lösen. Ohne an diese Theorie gebunden sein zu wollen, gehen die Erfinder von der Vorstellung aus, dass in diesem Fall die Reaktion an Grenzflächen zwischen organischer Phase und Wasserphase abläuft, wobei das Produkt im Wesentlichen in der organischen Phase gelöst ist und von dort am anorganischen Adsorbermaterial adsorbiert wird.

Wie bereits oben erläutert, wird beim erfindungsgemäßen Verfahren die Reduktion der Ketogruppe in der Weise durchgeführt, dass im Wesentlichen nur eines der Enantiomeren entsteht. Dazu können beispielsweise stereoselektive Katalysatoren verwendet werden. Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform wird die Reduktion der Ketogruppe zu der an einem chiralen Kohlenstoffatom gebundenen Hydroxygruppe in der Weise durchgeführt, dass die Reduktion unter Katalyse durch ein Enzym erfolgt. Enzyme weisen eine hohe Regio- sowie Stereoselektivität auf, sodass die Reduktion mit einem hohen

Enantiomerenüberschuss zugunsten eines Enantiomers durchgeführt werden kann. Die Enzyme werden bevorzugt aus der Klasse der Oxireduktasen ausgewählt. Die spezifische Oxireduktase wird dabei in Abhängigkeit vom Substrat ausgewählt. Die Enzyme können sowohl in isolierter und ggf. gereinigter Form eingesetzt werden als auch in Zellen, sodass die Reduktion der Ketogruppe in Form einer Fermentation durchgeführt wird. An sich unterliegt das erfindungsgemäße Verfahren hier keinen Beschränkungen. Sofern die Enzyme in Substanz eingesetzt werden, können sie sowohl in Form aufgeschlossener Zellen verwendet werden als auch in gereinigter Form. Im letzteren Fall ist es sowohl möglich, die Enzyme in gelöster Form einzusetzen als auch in einer gebundenen Form, das heißt in einer Form, in welcher das Enzym an eine feste Matrix gebunden ist. Der Fachmann kann hier auf bekannte Techniken zurückgreifen.

Die enzymatische Reduktion durch Oxireduktasen erfordert im Allgemeinen die Gegenwart eines Cofaktors, welcher bei der Reduktion in stöchiometrischer Menge verbraucht wird. Gemäß einer Ausführungsform ist daher vorgesehen, dass die Reduktion der Ketogruppe zu der an einem chiralen Kohlenstoff gebundenen Hydroxygruppe durch das Enzym in Gegenwart eines Cofaktors erfolgt. Als Cofaktoren werden dabei übliche Cofaktoren eingesetzt. Beispielhafte Cofaktoren sind NADH und NADPH. Es ist allerdings auch möglich, andere bekannte Cofaktoren einzusetzen.

Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform wird als Enzym für die stereoselektive Reduktion des Ketons eine Alkoholdehydrogenase verwendet. Die Alkoholdehydrogenase wird in Abhängigkeit vom Substrat ausgewählt. Geeignete Alkoholdehydrogenasen sind beispielsweise Yeast alcoholdehydrogenase (YADH), alcoholdehydrogenase-A (ADH-A), Lactobacillus brevis alcoholdehydrogenase (LbADH), 6-Hydroxyhexanoic acid

dehydrogenase (HCADH) oder die Reduktase Carbonyl reductase aus *Rhodococcus erythropolis* (RECR) oder auch carbonyl reductase (CPCR) aus *Candida parapsilosis*.

Die Alkoholdehydrogenasen werden nach üblichen Verfahren
5 gewonnen. Bevorzugt werden solche Alkoholdehydrogenasen verwendet, welche auch in organischen Lösungsmitteln die Reduktion der Ketogruppe zu einer an einem chiralen Kohlenstoffatom gebundenen Hydroxygruppe katalysieren.

Wie bereits oben erläutert, kann das erfindungsgemäße
10 Verfahren auch in Gegenwart einer geringen Menge einer Wasserphase durchgeführt werden. Dies kann beispielsweise erforderlich sein, um einen sehr polaren Cofaktor, wie NAD^+ oder NADP^+ zu lösen. Nach der Oxidation kann der Cofaktor, beispielsweise NADH oder NADPH , ggf. in die organische Phase
15 übertreten und dort in der enzymatisch katalysierten Reduktion der Ketogruppe verbraucht werden. Da große Mengen an Wasser dazu führen, dass Wassermoleküle um Adsorptionsplätze am anorganischen Adsorbermaterial konkurrieren, ist gemäß einer bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens
20 vorgesehen, dass der Cofaktor in einer Wasserphase gelöst ist und die Wasserphase neben dem organischen Lösungsmittel in einem Anteil von weniger als 1 Gew.-%, bezogen auf das organische Lösungsmittel, in der Mischung enthalten ist. Gemäß einer Ausführungsform ist die Wasserphase in einem Anteil von
25 zumindest 0,1 Gew.-%, bezogen auf das organische Lösungsmittel, in der Mischung enthalten. Der Anteil der Wasserphase wird gemäß einer Ausführungsform zumindest so groß gewählt, dass der Cofaktor vollständig in der Wasserphase gelöst werden kann.

30 Wie bereits oben erläutert, kann der Cofaktor beispielsweise nur in der reduzierten Form in der Wasserphase gelöst sein und nach seiner Oxidation wieder in die organische Phase

übergehen. Es kann aber auch sein, dass der Cofaktor sowohl in der reduzierten als auch in der oxidierten Form in der Wasserphase enthalten ist und die enzymkatalysierte Reduktion des Ketons an einer Grenzphase zwischen organischer Phase und Wasserphase erfolgt. Bei dieser Ausführungsform des 5 erfindungsgemäßen Verfahrens ist bevorzugt, dass die Wasserphase in fein verteilter Form in der organischen Phase dispergiert ist.

Die Enzyme, welche bei der enzymatischen Reduktion der ersten 10 Verbindung, also der Reduktion der Ketogruppe eingesetzt werden, erfordern meist die Gegenwart eines Cofaktors, welcher während der enzymatischen Reaktion oxidiert wird. Diese Cofaktoren werden, wie oben erläutert, in stöchiometrischen Mengen verbraucht. Da sie sehr teuer sind, ist gemäß einer 15 bevorzugten Ausführungsform vorgesehen, dass der Cofaktor während der Reduktion der Ketogruppe regeneriert wird, also der Cofaktor zwischen seinem oxidierten und seinem reduzierten Zustand im Kreislauf geführt wird.

Die Regenerierung des Cofaktors kann an sich nach üblichen 20 Verfahren durchgeführt werden. So kann die Regenerierung auf elektrochemischem Weg erfolgen. Es ist aber auch möglich, die Regenerierung chemisch durchzuführen, indem der Mischung ein weiteres Reduktionsmittel zugegeben wird, beispielsweise Natriumdithionit. Bevorzugt wird die Regenerierung des 25 Cofaktors jedoch ebenfalls enzymkatalysiert durchgeführt. Hierbei können übliche Systeme verwendet werden. Beispielsweise können Ameisensäure oder Formiate durch Formiatdehydrogenase zu Kohlendioxid oxidiert werden. Weiter kann als Reduktionsmittel beispielsweise auch Glucose bzw. 30 Glucose-6-phosphat eingesetzt werden, welche durch Glucosedehydrogenase oder Glucose-6-phosphatdehydrogenase zu den entsprechenden Zuckersäuren oxidiert werden.

Gemäß einer Ausführungsform wird die Regenerierung des Cofaktors ebenfalls durch eine Alkoholdehydrogenase durchgeführt, wobei die Alkoholdehydrogenase sowohl für die Reduktion des Ketons zum chiralen Alkohol als auch für die Oxidation eines sogenannten Opferalkohols zum entsprechenden Keton eingesetzt werden kann. Bei dieser Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens ist daher vorgesehen, dass die Mischung als weiteren Bestandteil einen Opferalkohol zur Regenerierung des Cofaktors enthält. Als Opferalkohol werden bevorzugt niedrigere sekundäre Alkohole eingesetzt, welche bevorzugt 3 bis 10 Kohlenstoffatome umfassen, insbesondere bevorzugt Isopropanol oder Isobutanol. Der Opferalkohol kann dabei im Überschuss eingesetzt werden. Gemäß einer Ausführungsform beträgt der Anteil des Opferalkohols in der Mischung weniger als 25 Gew.-%, bevorzugt weniger als 10 Gew.-%, insbesondere bevorzugt weniger als 5 Gew.-%, bezogen auf das organische Lösungsmittel, welches an der enzymatischen Reduktion nicht teilnimmt. Bevorzugt wird der Opferalkohol zumindest in einer Menge in der Mischung eingesetzt, welche der doppelten stöchiometrischen Menge, insbesondere bevorzugt zumindest der dreifachen stöchiometrischen Menge entspricht, welche für die Regenerierung des Cofaktors erforderlich ist.

Gemäß einer Ausführungsform ist vorgesehen, dass der Opferalkohol ein geringeres Molekulargewicht aufweist als die zweite Verbindung. Bevorzugt beträgt das Molekulargewicht des Opferalkohols weniger als 75 %, weiter bevorzugt weniger als 55 % des Molekulargewichts der zweiten Verbindung.

Wie bereits oben erläutert, wird die Information über die Stereochemie am chiralen Kohlenstoffatom, an welches die Hydroxygruppe gebunden ist, bevorzugt während der Reduktion der Ketogruppe eingeführt. Es ist dann nicht notwendig, eine Enantiomerentrennung beim entstandenen Alkohol durchzuführen. Gemäß einer Ausführungsform ist daher vorgesehen, dass das

anorganische Adsorptionsmittel ein achirales Adsorptionsmittel ist. Unter einem achiralen Adsorptionsmittel wird ein Adsorptionsmittel verstanden, bei welchem beide Enantiomere im Wesentlichen gleich adsorbiert werden, sodass durch die Adsorption keine Trennung der beiden möglichen Enantiomeren erfolgt. Im erfindungsgemäßen Verfahren können daher sehr günstige anorganische Adsorptionsmittel eingesetzt werden, was insbesondere für eine technische Anwendung vorteilhaft ist.

Bevorzugt wird das erfindungsgemäße Verfahren in der Weise durchgeführt, dass der bei der Reduktion der Ketogruppe entstehende Alkohol kontinuierlich aus der Reaktionsmischung entfernt wird. Dazu kann das Enzym beispielsweise von der Lösungsmittelphase abgetrennt werden. Das Lösungsmittel, welches die Mischung aus erster und zweiter Verbindung enthält, wird mit dem anorganischen Adsorptionsmittel in Kontakt gebracht, sodass die zweite Verbindung durch das anorganische Adsorptionsmittel zumindest teilweise aus dem Lösungsmittel entfernt wird. Dazu kann vorgesehen sein, dass die Reaktionsmischung, in welcher die enzymatische Reaktion durchgeführt wird, beispielsweise über eine Membrane aufgetrennt wird, sodass das Enzym von einem Teil des Lösungsmittels separiert wird. Das Lösungsmittel wird dann mit dem anorganischen Adsorptionsmittel in Kontakt gebracht, indem das Lösungsmittel beispielsweise über eine Säule geleitet wird, die aus dem anorganischen Adsorptionsmittel gepackt wurde, sodass die Lösungsmittelphase an der zweiten Verbindung abgereichert wird. Die an der zweiten Verbindung abgereicherte Lösungsmittelphase kann dann wieder in den Reaktionsansatz zurückgeleitet werden.

Gemäß einer Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens ist vorgesehen, dass die Reduktion der Ketogruppe zu einer an einem chiralen Kohlenstoffatom gebundenen Hydroxygruppe in

Gegenwart des anorganischen Adsorptionsmittels durchgeführt wird.

Bei dieser Ausführungsform wird also das anorganische Adsorptionsmittel zum Reaktionsgemisch zugegeben. Die Menge an
5 anorganischem Adsorptionsmittel wird dabei ausreichend hoch gewählt, sodass eine ausreichend große Menge der zweiten Verbindung am anorganischen Adsorptionsmittel adsorbiert werden kann, um die Reduktion der Ketogruppe der ersten Verbindung zugunsten einer möglichst hohen Ausbeute zu Gunsten
10 der zweiten Verbindung einzustellen.

Nach der Reaktion kann die Reaktionsmischung sehr einfach aufgetrennt werden, indem das anorganische Adsorptionsmittel beispielsweise sedimentieren gelassen wird und die Lösungsmittelphase, welche das Enzym sowie gegebenenfalls noch
15 Anteile der ersten Verbindung enthält, abdekantiert wird. Ebenso ist es möglich, das anorganische Adsorptionsmittel nach erfolgter Reduktion der Ketogruppe durch Filtration von der Lösungsmittelphase abzutrennen.

Das anorganische Adsorptionsmittel wird bevorzugt so
20 ausgewählt, dass die zweite Verbindung im Vergleich zur ersten Verbindung in erhöhtem Maß an dem anorganischen Adsorptionsmittel adsorbiert wird.

Ein geeignetes anorganisches Adsorptionsmittel ist beispielsweise Siliziumdioxid, das bevorzugt in feindisperser
25 Form eingesetzt wird.

Bevorzugt werden im erfindungsgemäßen Verfahren anorganische Adsorptionsmittel eingesetzt, welche einen Aluminiumanteil, berechnet als Al_2O_3 von mehr als 40 Gew.-% aufweisen. Das Aluminium kann in dem anorganischen Adsorptionsmittel in Form
30 von Aluminiumoxid enthalten sein. Es ist aber auch möglich,

dass das anorganische Adsorptionsmittel das Aluminium in Form beispielsweise eines gemischten Oxids enthält. Neben dem Aluminium können noch weitere Metalle in dem anorganischen Adsorptionsmittel enthalten sein, wie beispielsweise Silizium.

5 Das aluminiumoxidhaltige anorganische Adsorptionsmittel kann aus einer natürlichen Quelle abgebaut sein, also ein natürliches Mineral sein. Bevorzugt werden jedoch synthetische Verbindungen eingesetzt. Diese lassen sich unter kontrollierten Bedingungen herstellen und führen daher zu

10 reproduzierbaren Eigenschaften und Ergebnissen beim erfindungsgemäßen Verfahren. Das anorganische Adsorptionsmittel besteht bevorzugt überwiegend aus einem aluminiumoxidhaltigen anorganischen Adsorptionsmittel. Es ist möglich, dass das anorganische Adsorptionsmittel neben dem

15 eigentlichen Adsorptionsmittel beispielsweise ein Bindemittel enthält, welches selbst auch keine Adsorptionseigenschaften aufweisen kann. Vorzugsweise umfasst das anorganische Adsorptionsmittel mehr als 60 Gew.-%, bevorzugt mehr als 80 Gew.-%, besonders bevorzugt mehr als 90 Gew.-% Al_2O_3 . Die

20 Differenz zu 100 % könnte beispielsweise jeweils durch einen Anteil eines Bindemittels gebildet werden, mit welchem das anorganische Adsorptionsmittel beispielsweise zu einem Partikel gebunden wird. Gemäß einer besonders bevorzugten Ausführungsform besteht das anorganische Adsorptionsmittel nur

25 aus Aluminiumoxid.

Das im erfindungsgemäßen Verfahren verwendete anorganische Adsorptionsmittel weist vorzugsweise eine sehr hohe spezifische Oberfläche auf. Bevorzugt weist das anorganische Adsorptionsmittel eine spezifische Oberfläche von mehr als

30 $100 \text{ m}^2/\text{g}$ auf. Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform weist das anorganische Adsorptionsmittel eine spezifische Oberfläche im Bereich von 100 bis $750 \text{ m}^2/\text{g}$, besonders bevorzugt 120 bis

700 m²/g, insbesondere bevorzugt 140 bis 650 m²/g auf. Die spezifische Oberfläche wird nach dem BET-Verfahren bestimmt.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform weist das im erfindungsgemäßen Verfahren verwendete anorganische

- 5 Adsorptionsmittel ein hohes Porenvolumen auf. Gemäß einer bevorzugten Ausführungsform weist das anorganische Adsorptionsmittel ein Porenvolumen von mehr als 0,1 ml/g auf, besonders bevorzugt ein Porenvolumen von mehr als 0,2 ml/g. Das Porenvolumen wird als kumulatives Porenvolumen nach BJH
- 10 (I.P. Barret, L.G. Joiner, P.P. Haienda, J. Am. Chem. Soc. 73, 1991, 373) für Poren mit einem Durchmesser von 1,7 bis 300 nm bestimmt. Gemäß einer Ausführungsform weist das anorganische Adsorptionsmittel ein Porenvolumen von weniger als 1,4 ml/g auf. Gemäß einer weiteren Ausführungsform des Verfahrens
- 15 beträgt das Porenvolumen des anorganischen Adsorptionsmittels weniger als 1,3 ml/g und gemäß einer weiteren Ausführungsform weniger als 1,2 ml/g.

- Als aluminiumoxidhaltige Komponente werden bevorzugt Aluminiumoxide, Aluminiumhydroxide, Boehmit oder Alumosilikate
- 20 verwendet. Diese Verbindungen können in reiner Form oder auch in Form von Mischungen der genannten Verbindungen verwendet werden. Als Aluminiumoxid kann sowohl α -, γ - als auch ϵ -Al₂O₃ verwendet werden. Gemäß einer Ausführungsform werden als anorganisches Adsorptionsmittel Aluminiumoxide eingesetzt,
- 25 wobei γ -Al₂O₃ weiter bevorzugt ist. Die Aluminiumoxide können in reiner Form verwendet werden oder als Mischung aus zwei oder drei der genannten Phasen. Es können Aluminiumhydroxide unterschiedlicher Zusammensetzung verwendet werden, welche auch einen unterschiedlichen Grad an Dehydratisierung bzw.
- 30 Polymerisation aufweisen können. Bei Boehmit handelt es sich um AlOOH.

Aluminiumoxide und deren Hydrate können beispielsweise hergestellt werden, indem basische Aluminatlösungen durch Zugabe von Säure neutralisiert werden. Die Fällung der Aluminiumhydroxide bzw. deren Hydrate kann durch die Zugabe von Kristallisationskeimen unterstützt werden. Es ist auch möglich, hydratisierte Aluminiumhydroxide aus sauren Lösungen von Aluminiumsalzen durch Zugabe von Basen oder durch Kombination von basischen Lösungen von Aluminaten mit sauren Lösungen von Aluminiumsalzen auszufällen. Die von der wässrigen Phase abgetrennten hydratisierten Aluminiumoxide können dann durch Glühen in Aluminiumoxide umgewandelt werden.

Ein geeignetes Verfahren zur Herstellung hydratisierter Aluminiumoxide ist beispielsweise in der WO 01/02297 beschrieben.

Die Aluminiumoxide und deren Hydrate können auch über einen Sol-Gel Prozess hergestellt werden. Dazu können beispielsweise Aluminiumalkoxide hydrolysiert werden. Die Hydrolyse kann allgemein in einem Temperaturbereich von 30 bis 150 °C durchgeführt werden. Das feste Aluminiumoxidhydrat wird von der wässrigen Alkoholphase abgetrennt. Die erhaltenen Kristalle können beispielsweise noch unter hydrothermalen Bedingungen gealtert werden.

Ein geeignetes Verfahren ist beispielsweise in der WO 00/09445 beschrieben.

Gemäß einer weiteren bevorzugten Ausführungsform ist die aluminiumoxidhaltige Komponente ein synthetisches Alumosilikat.

Die Alumosilikate weisen bevorzugt einen Siliziumgehalt, berechnet als SiO_2 , von weniger als 60 Gew.-%, bevorzugt weniger als 55 Gew.-%, weiter bevorzugt weniger als 50 Gew.-%

auf. Gemäß einer Ausführungsform beträgt der Siliziumgehalt des Alumosilikats, berechnet als SiO_2 , mehr als 0,5 Gew.-%, gemäß einer weiteren Ausführungsform mehr als 0,75 Gew.-%.

Alumosilikate lassen sich beispielsweise herstellen, indem
5 organische Aluminiumverbindungen unter sauren Bedingungen hydrolysiert und dann gemeinsam mit Kieselsäure oder Kieselsäureverbindungen unter hydrothermalen Bedingungen gealtert werden. Geeignete Aluminiumverbindungen sind beispielsweise Aluminiumalkoholate,
10 Aluminiumhydroxyalkoholate, Aluminiumacetylacetonate, Aluminiumalkylchloride oder auch Aluminiumcarboxylate. Ein geeignetes Verfahren ist beispielsweise in der US 6,245,310 B1 beschrieben.

Um besonders reine Alumosilikate zu erhalten, können an Stelle
15 von Kieselsäure auch hydrolyisierbare Organosiliziumverbindungen verwendet werden, wobei die Hydrolyse der Organosiliziumverbindungen und der hydrolyisierbaren Aluminiumverbindungen gemeinsam durchgeführt wird. Ein solches Verfahren ist beispielsweise in der EP 0 931
20 017 B1 beschrieben.

Besonders bevorzugt werden Alumosilikate verwendet, die lediglich SiO_2 und Al_2O_3 als Bestandteile enthalten. Der Anteil weiterer Metalle, berechnet als stabilstes Oxid, wird bevorzugt geringer als 1 Gew.-% gewählt.

25 Das anorganische Adsorptionsmittel kann beispielsweise in Form eines Pulvers bereitgestellt werden. Die Partikelgröße des Pulvers wird allgemein so eingestellt, dass sich das anorganische Adsorptionsmittel ohne Schwierigkeit mit einem geeigneten Verfahren, wie beispielsweise Filtration, innerhalb
30 einer geeigneten Zeitspanne vom Reaktionsansatz abtrennen lässt.

Insbesondere für eine Anwendung des anorganischen Adsorptionsmittels in Form einer Säulenpackung sind jedoch auch höhere Korngrößen geeignet. Hierzu wird das anorganische Adsorptionsmittel bevorzugt in Form eines Granulats eingesetzt. Insbesondere für die Herstellung von Säulenpackungen wird bevorzugt ein Granulat verwendet, welches eine Korngröße von mehr als 0,1 mm aufweist. Bevorzugt weist das Granulat eine Korngröße im Bereich von 0,2 bis 5 mm, insbesondere bevorzugt 0,3 bis 2 mm auf. Die Korngröße lässt sich beispielsweise durch Sieben einstellen.

Das Granulat kann nach üblichen Verfahren hergestellt werden, indem beispielsweise das fein gemahlene anorganische Adsorptionsmittel mit einem Granuliertmittel, beispielsweise Wasser, beaufschlagt und dann in einer üblichen Granuliertvorrichtung in einer mechanisch erzeugten Wirbelschicht granuliert wird. Es können jedoch auch andere Verfahren eingesetzt werden, um das Granulat herzustellen. So kann das pulverförmige anorganische Adsorptionsmittel beispielsweise durch Kompaktierung zu einem Granulat geformt werden.

Das anorganische Adsorptionsmittel kann auch als Formkörper bereitgestellt werden, die beispielsweise durch Extrusion einer plastischen Masse erhalten werden können. Hierzu wird aus der aluminiumoxidhaltigen Komponente und ggf. weiteren Komponenten, wie beispielsweise einem Bindemittel, durch Zusatz einer Flüssigkeit, bevorzugt Wasser, eine Paste hergestellt. Diese Paste wird dann extrudiert und das Extrudat zerkleinert, beispielsweise indem der extrudierte Strang in kurze zylinderförmige Stücke geschnitten wird, und dann die erhaltenen Formkörper getrocknet. Neben massiven Zylindern können auf diese Weise z.B. auch Hohlzylinder hergestellt werden.

Nach der Formgebung können das Granulat bzw. die Formkörper noch wärmebehandelt werden und beispielsweise durch Erhitzen gesintert werden. Dadurch kann die Stabilität des Granulats bzw. der Formkörper erhöht werden. Für die Wärmebehandlung werden die Formkörper bzw. das Granulat bevorzugt auf eine Temperatur von mehr als 300 °C, gemäß einer weiteren Ausführungsform auf eine Temperatur von mehr als 400 °C, und gemäß noch einer weiteren Ausführungsform auf eine Temperatur von mehr als 500 °C erhitzt. Gemäß einer Ausführungsform wird die Temperatur geringer als 1200 °C, gemäß einer weiteren Temperatur geringer als 1000 °C gewählt.

Um stabile Formkörper zu erhalten, wird die Wärmebehandlung bevorzugt für eine Dauer von zumindest 30 Minuten, gemäß einer weiteren Ausführungsform für eine Dauer von zumindest 60 Minuten gewählt. Gemäß einer Ausführungsform wird die Behandlungsdauer geringer als 5 Stunden gewählt.

Wie bereits erläutert, kann das anorganische Adsorptionsmittel direkt zum Reaktionsansatz gegeben werden, wobei dieser gemäß einer Ausführungsform bewegt, beispielsweise geschüttelt wird. Gemäß einer weiteren Ausführungsform wird das anorganische Adsorptionsmittel in Form einer Säulenpackung bereitgestellt. Der Reaktionsansatz kann dann durch die Säulenpackung geleitet werden. Das an der zweiten Verbindung abgereicherte Lösungsmittel kann dann gemäß einer Ausführungsform wieder in den Reaktionsansatz zurückgeleitet werden.

Die Säulenpackung kann beispielsweise in Form einer Kartusche bereitgestellt werden. Bei der praktischen Durchführung kann der Reaktionsansatz bzw. das Lösungsmittel, von welchem zuvor das Enzym abgetrennt wurde, dann so lange durch die Kartusche geleitet werden, bis die Adsorptionskapazität des in der Kartusche enthaltenen anorganischen Adsorptionsmittels

erschöpft ist. Die Kartusche kann dann einfach gegen eine neue Kartusche ausgetauscht werden. Die in der Kartusche am anorganischen Adsorptionsmittel adsorbierte zweite Verbindung kann dann mit einem geeigneten Elutionsmittel eluiert werden.

- 5 Wird das anorganische Adsorptionsmittel in Form einer Säulenpackung vorgesehen, wird das anorganische Adsorptionsmittel in Form größerer Körner bereitgestellt, um einen übermäßigen Druckabfall über die Säulenpackung hinweg zu verhindern.
- 10 Bei dieser Ausführungsform wird daher das anorganische Adsorptionsmittel bevorzugt in Form eines Granulats verwendet, welches einen Partikeldurchmesser von mehr als 0,1 mm, insbesondere bevorzugt einen Partikeldurchmesser im Bereich von 0,2 bis 5 mm aufweist.
- 15 Es kann auch vorteilhaft sein, das anorganische Adsorptionsmittel auf eine höhere Temperatur zu erhitzen, um physikalisch gebundenes Wasser zu entfernen. Dazu kann gemäß einer Ausführungsform das anorganische Adsorptionsmittel auf eine Temperatur von mehr als 600 °C erhitzt werden. Gemäß
- 20 einer Ausführungsform wird die Temperatur geringer als 1000 °C gewählt. Durch eine solche Behandlung kann beispielsweise bei Boehmit zunächst das oberflächlich gebundene Wasser entfernt werden und das Hydrat in eine Oxidphase überführt werden.

Die Erfindung wird im Weiteren anhand von Beispielen sowie

25 unter Bezugnahme auf die beigefügte Figuren näher erläutert. Die Figuren zeigen dabei im Einzelnen:

Fig. 1: eine schematische Darstellung einer Vorrichtung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens;

- Fig. 2: ein Diagramm, in welchem die Konzentration an 2,5-Hexandion und 2,5-Hexandiol angegeben ist, welches aus einer Lösung in Ethylacetat an Adsorbens 3 gebunden wird;
- 5 Fig. 3: ein Diagramm, in welchem die Konzentration an 2,5-Hexandion und 2,5-Hexandiol angegeben ist, welches aus einer Lösung in Ethylacetat an Adsorbens 5 gebunden wird;
- 10 Fig. 4: ein Diagramm, in welchem die Konzentration an 2,5-Hexandion und 2,5-Hexandiol angegeben ist, welches aus einer Lösung in Heptan / 10 % 2-Propanol an Adsorbens 3 gebunden wird;
- Fig. 5: ein Chromatogramm für eine Auftrennung von 2,5-Hexandion und 2,5-Hexandiol an Adsorbens 5;
- 15 Fig. 6: ein Diagramm, in welchem die Konzentration an 2,5-Hexandiol im Überstand bei Adsorption von 2,5-Hexandiol aus einem Gemisch von Toluol und 10 % vv⁻¹ 2-Propanol für verschiedene Adsorbentien dargestellt ist;
- 20 Fig. 7: ein Diagramm, in welchem die Adsorption von NADH aus einem wässrigen Kaliumphosphatpuffer dargestellt ist;
- Fig. 8: ein Diagramm, in welchem die Adsorption von NADH aus einer Mischung eines wässrigen Kaliumphosphatpuffers und Isopropanol dargestellt ist;
- 25 Fig. 9: ein Diagramm, in welchem die Änderung der Konzentration von 2,5-Hexandion und 2,5-Hexandiol während einer enzymatisch katalysierten Reduktion dargestellt ist, wobei die Reaktion ohne Anwesenheit

eines anorganischen Adsorptionsmittels durchgeführt wird;

Fig. 10: ein Diagramm, in welchem die Änderung der Konzentration von 2,5-Hexandion und 2,5-Hexandiol während einer enzymatisch katalysierten Reduktion dargestellt ist, wobei die Reaktion in Anwesenheit eines anorganischen Adsorptionsmittels durchgeführt wird.

Fig. 1 zeigt einen Aufbau, in welchem das erfindungsgemäße Verfahren durchgeführt werden kann. In einem Reaktor 1 ist eine Reaktionsmischung 2 enthalten, welche ein organisches Lösungsmittel enthält, in welchem eine erste Verbindung gelöst ist, die eine prochirale Ketogruppe umfasst, sowie eine zweite Verbindung, die eine an ein chirales Kohlenstoffatom gebundene Hydroxygruppe umfasst, und die aus der ersten Verbindung hervorgegangen ist. Weiter enthält die Mischung 2 eine Alkoholdehydrogenase und einen Opferalkohol, beispielsweise Isopropanol. Weiter umfasst die Mischung 2 eine Wasserphase, in welcher ein Cofaktor, beispielsweise NADP^+ , gelöst ist. Die Mischung wird durch einen Rührer 3 bewegt. Über einen Abfluss 4 wird die Mischung 2 aus dem Reaktor 1 entnommen und in einem Separator 5 mit Hilfe einer Membran 6 in einen Anteil aufgeteilt, der das Enzym enthält und der über eine Rückleitung 7 wieder in den Reaktor 1 zurückgeführt wird, sowie einen Anteil, der das organische Lösungsmittel, jedoch kein Enzym enthält, und der über eine Zuleitung 8 einer Adsorberkartusche 9 zugeführt wird. Die Adsorberkartusche 9 ist mit einem anorganischen Adsorbermaterial gepackt, beispielsweise Aluminiumoxid, sodass die zweite Verbindung teilweise an dem anorganischen Adsorbermaterial adsorbiert und damit das organische Lösungsmittel an der zweiten Verbindung abgereichert wird. Das organische Lösungsmittel, welches noch

einen Anteil der ersten Verbindung enthält, wird dann über Rückleitung 10 wieder zum Reaktor 1 zurückgeleitet.

Um das auf dem in der Absorberkartusche 9 absorbierten Produkt eluieren zu können, ist ein Zulauf 11 für ein Elutionsmittel sowie ein Ablauf 12 vorgesehen, über welchen das mit dem Produkt beladene Elutionsmittel abgeführt werden kann. Dazu wird der über den Reaktor 1 führende Kreislauf des Lösungsmittels angehalten und die Absorberkartusche 9 mit Elutionsmittel gespült, welches über Zulauf 11 zugeführt und über Ablauf 12 abgeführt wird.

Bestimmung physikalischer Parameter

Die physikalischen Eigenschaften des anorganischen Adsorptionsmittels wurden mit den folgenden Verfahren bestimmt:

15 BET-Oberfläche/Porenvolumen nach BJH und BET:

Die Oberfläche und das Porenvolumen wurden mit einem vollautomatischen Stickstoffporosimeter der Firma Micromeritics Typ ASAP 2010 bestimmt.

Die Probe wird im Hochvakuum auf die Temperatur von flüssigem Stickstoff abgekühlt. Anschließend wird kontinuierlich Stickstoff in die Probenkammern dosiert. Durch die Erfassung der adsorbierten Gasmenge als Funktion des Druckes wird bei konstanter Temperatur eine Adsorptionsisotherme ermittelt. In einem Druckausgleich wird das Analysengas schrittweise entfernt und eine Desorptionsisotherme aufgenommen.

Zur Ermittlung der spezifischen Oberfläche und der Porosität nach der BET-Theorie werden die Daten gemäß DIN 66131 ausgewertet.

Das Porenvolumen wird ferner aus den Messdaten unter Anwendung der BJH-Methode ermittelt (I.P. Barret, L.G. Joiner, P.P. Haienda, J.Am.Chem.Soc. 73, 1991, 373). Bei diesem Verfahren werden auch Effekte der Kapillarkondensation berücksichtigt.

- 5 Porenvolumina bestimmter Volumengrößenbereiche werden durch Aufsummieren inkrementeller Porenvolumina bestimmt, die aus der Auswertung der Adsorptionsisotherme nach BJH erhalten werden. Das Gesamtporenvolumen nach BJH-Methode bezieht sich auf Poren mit einem Durchmesser mit 1,7 bis 300 nm.

10 Wassergehalt:

Der Wassergehalt der Produkte bei 105°C wird unter Verwendung der Methode DIN/ISO-787/2 ermittelt.

Glühverlust:

- 15 In einem geglähten gewogenen Porzellantiegel mit Deckel wird ca. 1 g getrocknete Probe auf 0,1 mg genau eingewogen und 2 h lang bei 1000 °C im Muffelofen gegläht. Danach wird der Tiegel im Exsikkator abgekühlt und ausgewogen.

Bestimmung des Schüttgewichts

- 20 Ein bei der 1000 ml Markierung abgeschnittener Messzylinder wird gewogen. Dann wird die zu untersuchende Probe mittels eines Pulvertrichters so in einem Zug in den Messzylinder eingefüllt, dass sich oberhalb des Abschlusses des Messzylinders ein Schüttkegel ausbildet. Der Schüttkegel wird mit Hilfe eines Lineals, das über die Öffnung des
25 Messzylinders geführt wird, abgestreift und der gefüllte Messzylinder erneut gewogen. Die Differenz entspricht dem Schüttgewicht.

Verwendete anorganische Adsorbermaterialien:

In den folgenden Beispielen wurde eine Reihe synthetischer Aluminiumoxidverbindungen eingesetzt. Als eine erste Gruppe wurden kommerziell erhältliche Alumosilicate getestet, die
5 unter den Bezeichnungen Siral® 5, Siral® 30, Siral® 40 erhältlich sind. Ferner wurde ein Boehmit getestet, welcher unter der Bezeichnung Pural® SCC 150 vertrieben wird. Als weiteres Adsorptionsmittel wurden Aluminiumoxide verwendet, welche unter der Bezeichnung Puralox® angeboten werden. Diese
10 Adsorbentien wurden von der Sasol Germany GmbH, Ankermannsplatz 1, 20537 Hamburg, DE, bezogen. Schließlich wurden auch Aluminiumoxide eingesetzt, wie sie üblicherweise für chromatographische Trennverfahren benutzt werden (Hersteller Macherey-Nagel, Düren, DE). Als Vergleichsmaterial
15 wurde ein handelsübliches Kieselgel zur Säulenchromatographie getestet, welches über Sigma-Aldrich bezogen wurde. Kieselgel Merck Typ 9385, 230-400 mesh, 60 Å Porendurchmesser, EC: 231-545-4.

Für die untersuchten anorganischen Adsorbermaterialien werden
20 im Weiteren die folgenden Bezeichnungen verwendet:

Tabelle 1: Verwendete Adsorbermaterialien

Adsorbens 1	Siral [®] 5 (Sasol, Hamburg, DE)
Adsorbens 2	Siral [®] 30 (Sasol, Hamburg, DE)
Adsorbens 3	Siral [®] 40 (Sasol, Hamburg, DE)
Adsorbens 4	Pural [®] SB (Sasol, Hamburg, DE)
Adsorbens 5	Puralox [®] KR-160 (Sasol, Hamburg, DE)
Adsorbens 6	Pural [®] SCC 150 (Sasol, Hamburg, DE)
Adsorbens 7	Puralox [®] SCCa-150/230 (Sasol, Hamburg, DE)
Adsorbens 8	Aluminiumoxid neutral (Macherey-Nagel, Düren, DE)
Adsorbens 9	Aluminiumoxid basisch (Macherey-Nagel, Düren, DE)
Adsorbens 10	Silicagel (Sigma-Aldrich)

Die Eigenschaften der Adsorbentien sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

7. Juli 2010

Stolmár Scheele & Partner
34282-SÜD-P-WO/DrJun

Tabelle 2: Physikalische Eigenschaften der Adsorbentien (nach Herstellerangaben)

Adsorbens	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Phase	Boehmit/ SiO ₂	Boehmit/ SiO ₂	Boehmit/ SiO ₂	Boehmit	γ- Al ₂ O ₃	Boehmit	γ- Al ₂ O ₃	Al ₂ O ₃ amorph	Al ₂ O ₃ amorph	SiO ₂
Al ₂ O ₃ -Gehalt (%)	75	75	75	74	95,1	74	98	-	-	-
LOI (%)	25	25	25	n.d.	n.d.	n.d.	2	k.A.	k.A.	k.A.
Al ₂ O ₃ : SiO ₂ (%)	95:5	70:30	60:40	-	-	-	-	-	-	-
C (%)	0.2	0.2	0.2	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Fe ₂ O ₃ (%)	0.02	0.02	0.02	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.	k.A.
Na ₂ O (%)	0.005	0.005	0.005	0,002	0,002	0,002	0,002	k.A.	k.A.	k.A.

Tabelle 2 (Fortsetzung): Physikalische Eigenschaften der Adsorbentien

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Schüttgewicht (g/l) (nach Herstellerangaben)	450- 650	250- 450	250- 450	650 - 850	270	700- 850	600- 850	800 +/- 100	800 +/- 100	
Mittlere Teilchengröße (d ₅₀) [µm] (nach Herstellerangaben)	50	50	50	45	35			--	--	40 - 63
Teilchengrößenbereich [µm] (Siebanalyse; nach Hersteller- angaben)						60- 150	60- 150	50 - 200	50 - 200	
Wassergehalt (Gew.%)	6,0	6,3	7,8		1,2	7-8	1,0			
BET Oberfläche (m ² /g)	365	458	512	294	160	302	209	150	140	550
Kumulatives Porenvolumen (BJH) für Porendurchmesser 1.7 - 300 nm (cm ³ /g)	0,60	0,85	0,97	0,43	0,80	0,41	0,51	0,27	0,26	0,8
Durchschnittlicher Porendurchmesser (BJH) (nm)	6,3	6,7	7,2	5,0	17,2	4,7	7,0	5,8	6,2	6

Beispiel 1: Adsorption von 2,5-Hexandion und 2,5-Hexandiol an anorganischen Adsorptionsmitteln bei Verwendung verschiedener Lösungsmittel

Es wurde die Adsorption eines Gemisches von 2,5-Hexandion und 2,5-Hexandiol, das jeweils in verschiedenen Lösungsmitteln gelöst worden war, an das Adsorbens 3 sowie an das Adsorbens 5 untersucht.

Es wurden folgende Lösungsmittel getestet:

- a) destilliertes Wasser
- 10 b) Gemisch aus 18 % vv^{-1} 2-Propanol und KP_I -Puffer 100 mM, pH 7,0
- c) Ethylacetat

Allgemeine Arbeitsvorschrift:

Aus den zu untersuchenden Lösungsmitteln wurde jeweils eine Lösung hergestellt, die eine bestimmte, bei den Beispielen angegebene Konzentration an 2,5-Hexandion bzw. 2,5-Hexandiol aufwies.

Jeweils 15 ml der Lösung wurden bei Raumtemperatur (20 °C) mit einer definierten Menge des Adsorbens versetzt. Die Zugabe des Adsorbens erfolgte entweder einmalig oder in mehreren Portionen in einem bestimmten zeitlichen Abstand. Nach Zugabe des Adsorbens wurde die Suspension bei 150 rpm auf einem Rotationsschüttler bei Raumtemperatur inkubiert. Nach Ablauf einer bestimmten Zeit wurde eine Probe entnommen, das Adsorbens durch Zentrifugation abgetrennt und der Überstand analytisch mittels Gaschromatographie oder im Spektrophotometer bei 340 nm (bei Untersuchung des Cofaktors NADH) vermessen. Bei der Messung im Gaschromatographen betrug die Probenmenge 70-100 μL .

Die jeweils verwendeten Versuchsbedingungen und die Ergebnisse sind in den folgenden Tabellen angegeben.

a) Adsorption aus Wasser

Die Untersuchung wurde nach der oben angegebenen allgemeinen
5 Vorschrift durchgeführt. Es wurde eine Lösung verwendet, die
50 mMol 2,5-Hexandiol, jedoch kein 2,5-Hexandion enthielt. Zu
Beginn des Experiments wurden einmalig 3,0 g Adsorbens
zugegeben. Nach der Probennahme wurde die Reaktionsmischung
weiter bei Raumtemperatur inkubiert. Die gemessenen
10 Konzentrationen sind in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3: Adsorption von 2,5-Hexandiol aus Wasser;
Konzentration im Überstand der Probe nach
bestimmten Adsorptionszeiten; einmalige Zugabe des
Adsorptionsmittels

Zeit (min)	2,5-Hexandiol (mM)	
	Adsorbens 3	Adsorbens 5
20	52,88	53,34
150	51,84	53,57
270	48,44	49,05

15

b) Adsorption aus KP_i -Puffer / Isopropanol

Die Untersuchung wurde nach der oben wiedergegebenen
allgemeinen Vorschrift durchgeführt. Es wurde eine Lösung
verwendet, die 50 mMol 2,5-Hexandiol, jedoch kein 2,4-
20 Hexandion enthielt. Zu Beginn des Experiments wurden 3,0 g
Adsorbens zugegeben. Nach 20 h wurden weitere 0,5 g Adsorbens
zugegeben. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4: Adsorption von 2,5-Hexandiol aus KP_i -Puffer / Isopropanol; Konzentration im Überstand der Probe nach bestimmten Adsorptionszeiten; portionsweise Zugabe des Adsorptionsmittels

Zeit (min)	2,5-Hexandiol (mM)	
	Adsorbens 3	Adsorbens 5
20	50,71	50,74
1200	47,70	48,36
1475	50,11	52,22

5

Auch aus einem KP_i -Puffer erfolgt keine signifikante Adsorption des 2,5-Hexandiols an die untersuchten Adsorbentien.

c) Adsorption aus Ethylacetat

Die Untersuchung wurde entsprechend der oben angegebenen
 10 allgemeinen Vorschrift durchgeführt. In einer ersten
 Versuchsreihe wurde eine Stammlösung mit 51,45 mM 2,5-
 Hexandion und 48,65 mM 2,5-Hexandiol, in einer zweiten
 Versuchsreihe mit 50,68 mM 2,5-Hexandion und 53,85 mM 2,5-
 Hexandiol verwendet. Zu Beginn des Experiments wurden 0,5 g
 15 Adsorbens zur Lösung gegeben. Im Abstand von 30 Minuten wurden
 jeweils weitere 0,5 g des Adsorbens zugegeben.

Die ermittelten Konzentrationen sind in den Tabellen 5a und 5b
 wiedergegeben.

Tabelle 5a: Adsorption von 2,5-Hexandiol/2,5-Hexandion aus Ethylacetat; 51,45 mM 2,5-Hexandion und 48,65 mM 2,5-Hexandiol; Konzentration im Überstand der Probe nach bestimmten Adsorptionszeiten; portionsweise Zugabe des Adsorptionsmittels

5

Zeit [min]	Träger [g]	Adsorbens 3 Hexandion		Adsorbens 3 Hexandiol	
		Hexandion [mM]	Kapazität Träger [mg/g]	Hexandiol [mM]	Kapazität Träger [mg/g]
30	0,5	49,30	7,37	36,74	42,2
60	1,0	47,68	6,46	29,75	33,5
90	1,5	46,65	5,45	25,50	27,4
120	2,0	49,88	1,35	20,86	24,6
1419	2,0	50,32	1,0	18,31	26,9

Tabelle 5a (Fortsetzung)

Zeit [min]	Träger [g]	Adsorbens 5 Hexandion		Adsorbens 5 Hexandiol	
		Hexandion [mM]	Kapazität Träger [mg/g]	Hexandiol [mM]	Kapazität Träger [mg/g]
30	0,5	50,69	2,61	37,34	40,1
60	1,0	50,32	1,94	28,40	36,0
90	1,5	50,53	1,05	21,90	31,6
120	2,0	46,64	4,12	25,40	20,6
1419	2,0	50,32	1,00	18,31	26,9

Tabelle 5a (Fortsetzung)

Zeit [min]	Träger [g]	Adsorbens 8		Adsorbens 9	
		Hexandion [mM]	Hexandiol [mM]	Hexandion [mM]	Hexandiol [mM]
30	0,5	50,68	38,66	51,23	39,34
60	1,0	50,58	29,48	50,47	29,24
90	1,5	49,51	20,52	49,27	20,57
120	2,0	51,72	14,06	50,58	20,94
1419	2,0	51,06	18,15	50,64	18,62

Tabelle 5b: Adsorption von 2,5-Hexandiol/2,5-Hexandion aus Ethylacetat; 50,68 mM 2,5-Hexandion und 53,85 mM 2,5-Hexandiol; Konzentration im Überstand der Probe nach bestimmten Adsorptionszeiten; portionsweise Zugabe des Adsorptionsmittels

Zeit [min]	Träger [g]	Adsorbens 4		Adsorbens 6	
		Hexandion [mM]	Hexandiol [mM]	Hexandion [mM]	Hexandiol [mM]
30	0,5	50,65	41,80	50,19	45,53
60	1,0	49,28	30,36	48,09	34,91
90	1,5	48,56	24,35	48,38	31,06
120	2,0	48,96	21,68	49,13	27,14
180	2,0	48,99	16,97	48,38	22,83
300	2,0	47,11	17,56	49,21	22,93

Tabelle 5b (Fortsetzung)

Zeit [min]	Träger [g]	Adsorbens 7		Adsorbens 8	
		Hexandion [mM]	Hexandiol [mM]	Hexandion [mM]	Hexandiol [mM]
30	0,5	50,35	44,32	50,39	45,04
60	1,0	49,10	29,93	49,85	34,60
90	1,5	49,04	23,36	49,40	28,37
120	2,0	48,84	17,52	49,29	22,63
180	2,0	49,42	12,33	50,02	17,50
300	2,0	51,46	13,18	51,67	17,55

Tabelle 5b (Fortsetzung)

Zeit [min]	Träger [g]	Adsorbens 9	
		Hexandion [mM]	Hexandiol [mM]
30	0,5	50,06	45,14
60	1,0	49,63	34,24
90	1,5	49,61	27,57
120	2,0	49,52	20,78
180	2,0	50,64	15,88
300	2,0	51,24	15,70

Tabelle 5c: Adsorption von 2,5-Hexandiol/2,5-Hexandion aus Ethylacetat; 51,23 mM 2,5-Hexandion und 48,67 mM 2,5-Hexandiol; Konzentration im Überstand der Probe nach bestimmten Adsorptionszeiten; portionsweise Zugabe des Adsorptionsmittels im Abstand von 30 Minuten

Zeit [min]	Träger [g]	Adsorbens 10	
		Hexandion [mM]	Hexandiol [mM]
30	0,5	48,89	32,94
60	1,0	47,63	31,84
90	1,5	46,14	29,03
120	2,0	46,96	28,54
150	2,0	45,26	26,86

Im Gegensatz zum wässrigen oder wässrig/organischen Medium, wurde bei Verwendung von Ethylacetat als Lösungsmittel das Diol bevorzugt adsorbiert. Dies kann sowohl für Boehmit, Boehmit/SiO₂-Mischphasen, γ -Al₂O₃, als auch für die amorphen Al-Oxide gezeigt werden.

Exemplarisch sind die Adsorptionskapazitäten für zwei der Träger unter den angeführten Versuchsbedingungen graphisch in den Figuren 2 und 3 dargestellt.

Beispiel 2: Adsorption von 2,5-Hexandion und 2,5-Hexandiol an anorganischen Adsorptionsmitteln in Gegenwart eines weiteren polaren Lösungsmittels

Der Versuch wurde analog zur allgemeinen Arbeitsvorschrift aus Beispiel 1 durchgeführt. Als Lösungsmittel zur Adsorption des Gemisches Hexandiol/Hexandion wurde Heptan mit 10 % 2-Propanol

verwendet. 2-Propanol wird als Opferalkohol zur Reduktion von NADH bzw NADP bei enzymatischen Reaktionen verwendet.

Es wurde eine Stammlösung hergestellt, welche 70 mM 2,5-Hexandion sowie 50 mM 2,5-Hexandiol in Heptan/10% 2-Propanol
5 enthielt. Aus dieser Stammlösung wurde durch Zugabe von Heptan/10 % 2-Propanol eine Verdünnungsreihe hergestellt.

In Glasvials wurden jeweils 200 mg Adsorbens 3 eingewogen und mit 1 ml des jeweiligen Gemisches aus der Verdünnungsreihe versetzt. Die Proben wurden anschließend für 60 Minuten auf
10 dem Rotationsschüttler (150 UpM) bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurde aus jedem Probengefäß eine Probe entnommen, das Adsorbens durch Zentrifugieren bei 13.000 UpM / 1 min. abgetrennt und 100 µl des Überstands in ein GC-Vial mit Inlet überführt. Die Untersuchung der Proben erfolgte mittels
15 Gaschromatographie.

Die gaschromatographisch bestimmten Konzentrationen sowie die daraus abgeleitete Kapazität des Trägers sind in Tabelle 6 . zusammengefasst.

Tabelle 6: Adsorption von 2,5-Hexandiol/2,5-Hexandion aus Heptan mit 10 % 2-Propanol an Adsorbens 3

Konz. Lösung (mM)	2,5-Hexandion		2,5-Hexandiol	
	Konz. Überstand [mM]	Kapazität Träger [mg/g]	Konz. Überstand [mM]	Kapazität [mg/g]
5	1,90	3,54	2,18	3,33
10	8,07	2,20	4,56	6,43
15	12,53	2,82	7,27	9,13
30	26,50	4,00	16,34	16,15
40	36,55	3,94	23,19	19,86
50	46,58	3,91	29,96	23,69
60	57,21	3,18	37,39	26,72
70	68,00	2,28	45,61	28,82

Auch in Gegenwart von 10 % des weiteren polaren Lösungsmittels
 5 2-Propanol erfolgt eine selektive Adsorption des Zielalkohols
 Hexandiol. Exemplarisch ist die Adsorptionskapazität in Fig. 4
 dargestellt.

Beispiel 3: Einsatz des Adsorbens 5 in einer Chromatographiesäule

2,5-Hexandion und 2,5-Hexandiol in einer Konzentration von 50 mM, wurden in Ethylacetat gelöst und auf eine mit 4,1 g
5 Adsorbens 5 gepackte und mit Ethylacetat äquilibrierte Säule (Länge 24 cm, Durchmesser: 0,7 cm) gegeben. Die Mischung wurde anschließend mit Ethylacetat als Laufmittel eluiert. Das 2,5-Hexandion wurde zuerst von der Säule eluiert und dadurch vollständig vom 2,5-Hexandiol abgetrennt. Das Chromatogramm
10 mit dem Elutionspeak für 2,5-Hexandion ist in Fig. 5 dargestellt. Als Elutionsmittel für das 2,5-Hexandiol wird Methanol oder Acetonitril verwendet.

Beispiel 4: Adsorptionstests aus Toluol

Es wurde eine Lösung von 50 mM 2,5-Hexandiol in Toluol
15 hergestellt und zu 15 ml dieser Lösung 0,5 g des zu untersuchendes Adsorbens gegeben. Anschließend wurde die Suspension bei 150 rpm auf dem Rotationsschüttler bei Raumtemperatur inkubiert. Nach 30 Minuten wurde das Adsorbens durch Zentrifugation bei 4 ° C während 5 Minuten abgetrennt.
20 Vom klaren Überstand wurden 100 µL in ein Probenglas überführt. Der restliche Überstand wurde auf 0,5 g frisches Adsorbens gegeben und bei den oben angegebenen Bedingungen für weitere 30 Minuten inkubiert. Das Adsorbens wurde erneut durch Zentrifugation abgetrennt und der Überstand
25 gaschromatographisch vermessen. Im weiteren Verlauf des Experiments wurden alle 30 Minuten weitere 0,5 g des Adsorbens zugegeben und die Suspension für weitere 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Dieser Vorgang wurde noch zwei weitere Male wiederholt, wobei vor der Zugabe des Adsorbens
30 jeweils die Konzentration an 2,5-Hexandiol im Überstand in der oben beschriebenen Weise bestimmt wurde. Die Versuchsdaten sowie die ermittelten Konzentrationen sind in Tabelle 7

wiedergegeben. Die Abnahme der Konzentration an 2,5-Hexandiol im Überstand ist ferner in Fig. 6 graphisch wiedergegeben.

Mit mehreren der Adsorbentien konnte bei einem Einsatz von 2,0 g die Konzentration an 2,5-Hexandiol im Überstand von
5 50,00 mM auf bis zu 10,21 mM verringert werden.

7. Juli 2010

Stolmár Scheele & Partner
 34282-SÜD-P-WO/DrJun

Tabelle 7: Adsorption von 2,5-Hexandiol aus Toluol an Adsorbens 3, Adsorbens 5, Adsorbens 8 und
 Adsorbens 9

	Adsorbens 3			Adsorbens 5		Adsorbens 8		Adsorbens 9	
Zeit [min]	Kapazität Träger [g]	Konz. [mM]	Kapazität Träger [mg/g]	Konz. [mM]	Kapazität Träger [mg/g]	Konz. [mM]	Kapazität Träger [mg/g]	Konz. [mM]	Kapazität Träger [mg/g]
30	0,5	19,69	112,19	23,94	97,14	22,71	101,49	21,40	106,13
60	1	15,39	63,72	19,54	56,36	19,19	56,98	18,36	58,45
90	1,5	13,05	45,24	17,82	39,60	17,64	39,82	17,46	40,04
120	2	10,21	36,45	16,43	30,94	14,66	32,50	15,06	32,16

Beispiel 5: Adsorption des Cofaktors NADH

Um die Eignung der Adsorbentien für einen enzymatischen Prozess für eine Umsetzung von Ketonen zu chiralen Alkoholen unter Einsatz des Enzyms ADH-'A' aus *Rhodococcus ruber* DSM 44541 zu testen, wurde die Adsorption des in diesem System verwendeten Cofaktors NADH untersucht.

Um den Einfluss der Adsorbentien auf den pH-Wert der Lösungen zu untersuchen, wurden zunächst 3 g Adsorbens 3 bzw. 1,5 g Adsorbens 5 zu jeweils 15 ml Kaliumphosphatpuffer (100 mM) oder destilliertem Wasser gegeben. Die Suspensionen wurden bei Raumtemperatur bei 150 rpm für 60 Minuten auf einem Reaktionsschüttler bewegt. Das Adsorbens wurde durch Zentrifugation abgetrennt und der pH-Wert des klaren Überstands mit einer Glaselektrode bestimmt. Anschließend wurde das Adsorbens in frischem Suspensionsmittel aufgeschlämmt und erneut bei den oben angegebenen Bedingungen für 60 Minuten inkubiert. Dieser Ablauf wurde mehrfach wiederholt. Die bei einer Behandlung mit Wasser ermittelten Werte sind in Tabelle 8 und die bei einer Behandlung mit Kaliumphosphatpuffer ermittelten Werte in Tabelle 9 angegeben.

Tabelle 8: Änderung des pH Werts durch Spülen der Adsorbentien mit destilliertem Wasser

Min.	Ads.3	Ads.4	Ads.5	Ads.6	Ads.7	Ads.8	Ads.9
60	3,60	6,99	8,29	4,58	8,31	6,74	10,10
120	3,78	7,47	8,56	5,03	8,73	7,48	10,54
180	3,79	7,05	8,04	4,56	7,41	7,71	10,24

Tabelle 9: Änderung des pH-Werts durch Spülen der Adsorbentien mit Enzympuffer (KPi-Puffer)

Min.	Ads.3	Ads.4	Ads.5	Ads.6	Ads.7	Ads.8	Ads.9
60	6,29	8,58	9,55	7,36	8,80	7,95	8,58
120	6,94	8,29	8,78	7,34	8,67	7,97	8,02
180	7,00	7,50	7,84	7,17	7,90	7,60	7,50

Für die Messung der Adsorption von NADH an das Adsorbens 3 bzw. das Adsorbens 5 wurden jeweils 20 mL des in Tabelle 10 angegebenen Reaktionsgemisches zu 4 g Adsorbens gegeben und die Suspension bei 150 rpm auf einem Rotationsschüttler bei Raumtemperatur inkubiert. In regelmäßigen Abständen wurden Proben genommen, die Träger durch Zentrifugation abgetrennt und der Überstand photometrisch bei 340 nm vermessen. Die ermittelten Konzentrationen sind graphisch in den Figuren 7 (Ansatz 1) und 8 (Ansatz 2) wiedergegeben.

Tabelle 10: Zusammensetzung von Reaktionsgemischen zur Untersuchung der Adsorption von NADH an verschiedenen Adsorbentien

Ansatz 1	Ansatz 2
20 mL 0,1 M KPi-Puffer pH 7,0	16.4 mL 0,1 M KPi-Puffer pH 7,0
	3.6 mL 2-Propanol
14.2 mg NADH	14.2 mg NADH

Wie die in den Figuren 7 und 8 wiedergegebenen Daten zeigen, wird der Cofaktor durch die Adsorbentien nicht in signifikanten Mengen adsorbiert.

Beispiel 6: Durchführung einer enzymatisch katalysierten
Reduktion von 2,5-Hexandion in Gegenwart von Adsorbentien

Zur Untersuchung des Einflusses von Adsorbentien auf die enzymatische Reduktion von 2,5-Hexandion wurde eine geträgerte
5 Alkoholdehydrogenase ADH-'A' verwendet, wobei als Träger für das Enzym poröse Glaspartikel Trisoperl® (VitraBio, Steinach, D) eingesetzt wurden. Die Durchführung der Immobilisierung der ADH-'A' auf den Glaspartikeln ist beschrieben in Goldberg, K.; Krueger, A.; Meinhardt, T.; Kroutil, W.; Mautner, B. & Liese,
10 A. (2008), 'Novel immobilization routes for the covalent binding of an alcohol dehydrogenase from *Rhodococcus ruber* DSM 44541', *Tetrahedron: Asymmetry* 19(10), 1171 - 1173.

Der Cofaktor wurde als Stammlösung eingesetzt, dafür wurden 14,2 mg NADH in 200 µL KPi-Puffer gelöst. Das Reaktionsmedium
15 (Toluol) wurde mit KPi-Puffer gesättigt, dafür wurden 30 mL Toluol mit 10 mL KPi-Puffer (100 mM, pH 7,0) gemischt, die Toluolphase abgenommen und im Versuch eingesetzt.

Zunächst wurde das geträgerte Enzym mit 100 µL NADH Stammlösung gemischt. Als nächstes wurden 8,8 mL Toluol
20 (gesättigt mit Puffer) und 1 mL 2-Propanol (10 % vv⁻¹) zugegeben. Die Reaktion wurde durch Zugabe von 97 µL Hexandion (80 mM) gestartet. Die Probe wurde bei 30 °C und 150 rpm auf dem Rotationsschüttler inkubiert.

Für die Bestimmung der Konzentration an 2,5-Hexandion und 2,5-Hexandiol wurden der Reaktionsmischung in bestimmten
25 zeitlichen Abständen jeweils 50 µL Probe genommen. Die Probe wurde mit 50 µL Toluol verdünnt und gaschromatographisch vermessen.

In einer ersten Versuchsreihe wurde der Umsatz der Reaktion
30 ohne Zusatz von Adsorbens untersucht. Unter diesen Bedingungen

war das Enzym intakt und die Konzentration an 2,5-Hexandion nahm mit zunehmender Reaktionszeit ab, während sich 2,5-Hexandiol bildete. Die Konzentration an 2,5-Hexandion bzw. 2,5-Hexandiol ist in Figur 9 in Abhängigkeit von der Zeit graphisch wiedergegeben.

In einer zweiten Reaktionsreihe wurde der Versuch wiederholt, wobei jedoch zusätzlich 3 g Adsorbens 5 zugegeben wurden. Die Abnahme der Diketon-Konzentration im Überstand mit der Zeit zeigt auch hier eine funktionierende enzymatische Umsetzung an, die Konzentration von 2,5-Hexandiol im Überstand war geringer. Es kann davon ausgegangen werden, dass das enzymatische Produkt an dem Adsorbens 5 gebunden ist. Die Konzentration an 2,5-Hexandion bzw. 2,5-Hexandiol ist in Figur 10 in Abhängigkeit von der Zeit graphisch wiedergegeben.

Beispiel 7: Durchführung einer enzymatisch katalysierten Reduktion von 2,5-Hexandion mit anschließender Aufarbeitung des Produktalkohols

Es wurde in einem thermostatisierbaren Reaktionskolben ein 2-Phasensystem bestehend aus einer wässrigen Phase ADH-A Rohextrakt in Kaliumphosphatpuffer (0.1 M, pH 7.0) und 1 mM NADH und einer organischen Phase Toluol + 10% v/v 2-Propanol (zur Regenerierung des Cofaktors NADH in einem Substratgekoppelten Ansatz) vorgelegt. Zum Start der Enzymreaktion wurde als Edukt 80 mM 2,5-Hexandion vorgelegt und zum Produkt 2,5-Hexandiol umgesetzt. Die Reaktionstemperatur betrug 30 °C, gerührt wurde nur die obere (organische) Toluolphase mit einem Clipfish-Rührer bei 100 rpm.

Als Kontrolle auf Produktbildung wurde die organische Phase in der GC vermessen. Nach der Detektion einer hohen Produktkonzentration, wurde die Reaktion abgebrochen und die

organische Phase abgenommen. Als Referenzwerte (0-Proben) wurden Endkonzentrationen an Edukt/Produkt vermessen.

Anschließend wurden 3 mL der organischen Phase zu 0,5 g vorgelegten Trägern gegeben und 30 Minuten bei 150 rpm bei RT
5 inkubiert auf einem Rotationsschüttler inkubiert.

Tabelle 11: Behandlung der organischen Phase mit dem Adsorbens 3 und 5, Ausgangskonzentrationen nach enzymatischer Reaktion (Nullproben) und Konzentrationen nach Behandlung mit 0.5 g Adsorbens

		Hexandion	Hexandiol
Träger	Menge Adsorbens [g]	Konz. [mM]	Konz. [mM]
Adsorbens 3	0	19,97	47,49
Adsorbens 3	0,5	17,45	16,94
Adsorbens 5	0	18,61	44,86
Adsorbens 5	0,5	19,41	30,98

Bezugszeichenliste

	1	Reaktor
	2	Reaktionsmischung
5	3	Rührer
	4	Abfluss
	5	Separator
	6	Membran
	7	Rückleitung
10	8	Zuleitung
	9	Adsorberkartusche
	10	Rückleitung
	11	Zulauf Elutionsmittel
	12	Ablauf Elutionsmittel
15		

Patentansprüche

1. Verfahren zur Auftrennung einer Mischung mit einer in einem Lösungsmittel gelösten ersten Verbindung, welche zumindest
5 eine Ketogruppe umfasst, und einer zweiten Verbindung, welche ein chirales Kohlenstoffatom mit einer Hydroxygruppe umfasst, die durch stereoselektive Reduktion der Ketogruppe aus der ersten Verbindung entstanden ist, wobei die Mischung mit einem anorganischen Adsorbermaterial in
10 Kontakt gebracht wird und zumindest ein Teil der zweiten Verbindung an dem anorganischen Adsorbermaterial adsorbiert wird, und eine an der zweiten Verbindung abgereicherte Mischung von dem anorganischen Adsorbermaterial abgetrennt wird.
- 15 2. Verfahren nach Anspruch 1, wobei das Lösungsmittel ein organisches Lösungsmittel ist.
3. Verfahren nach Anspruch 2, wobei das organische Lösungsmittel mit Wasser im Wesentlichen nicht mischbar ist.
- 20 4. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 bis 3, wobei die Reduktion der Ketogruppe zu der an einem chiralen Kohlenstoffatom gebundenen Hydroxygruppe unter Katalyse durch ein Enzym erfolgt.
- 25 5. Verfahren nach Anspruch 4, wobei die Reduktion der Ketogruppe zu der an einem chiralen Kohlenstoffatom gebundenen Hydroxygruppe durch das Enzym in Gegenwart eines Cofaktors erfolgt.

6. Verfahren nach Anspruch 4 oder 5, wobei das Enzym eine Alkoholdehydrogenase ist.
7. Verfahren nach Anspruch 6, wobei der Cofaktor in einer Wasserphase gelöst ist und die Wasserphase neben dem organischen Lösungsmittel in einem Anteil von weniger als 1 Gew.-%, bezogen auf das organische Lösungsmittel in der Mischung enthalten ist.
8. Verfahren nach Anspruch 6 oder 7, wobei die Mischung einen Opferalkohol zur Regenerierung des Cofaktors enthält.
9. Verfahren nach Anspruch 8, wobei der Opferalkohol ein geringeres Molekulargewicht aufweist als die zweite Verbindung.
10. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das anorganische Adsorptionsmittel ein achirales Adsorptionsmittel ist.
11. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei die Reduktion der Ketogruppe zu einer an einem chiralen Kohlenstoffatom gebundenen Hydroxygruppe in Gegenwart des anorganischen Adsorptionsmittels durchgeführt wird.
12. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das anorganische Adsorptionsmittel einen Aluminiumanteil, berechnet als Al_2O_3 von mehr als 40 Gew.-% aufweist.
13. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das anorganische Adsorptionsmittel eine spezifische Oberfläche von mehr als $100 \text{ m}^2/\text{g}$ aufweist.
14. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei das anorganische Adsorbiermaterial ein Porenvolumen von mehr

als 0,2 ml/g aufweist, bestimmt als kumulatives Porenvolumen nach BJH für Poren mit einem Durchmesser von 1,7 bis 300 nm.

15. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
5 das anorganische Adsorbermaterial ein Aluminiumsilikat ist.
16. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, wobei
nach der Abtrennung der an der zweiten Verbindung
abgereicherten Mischung die an dem anorganischen
Adsorbermaterial adsorbierte zweite Verbindung von dem
10 anorganischen Adsorbermaterial desorbiert wird.

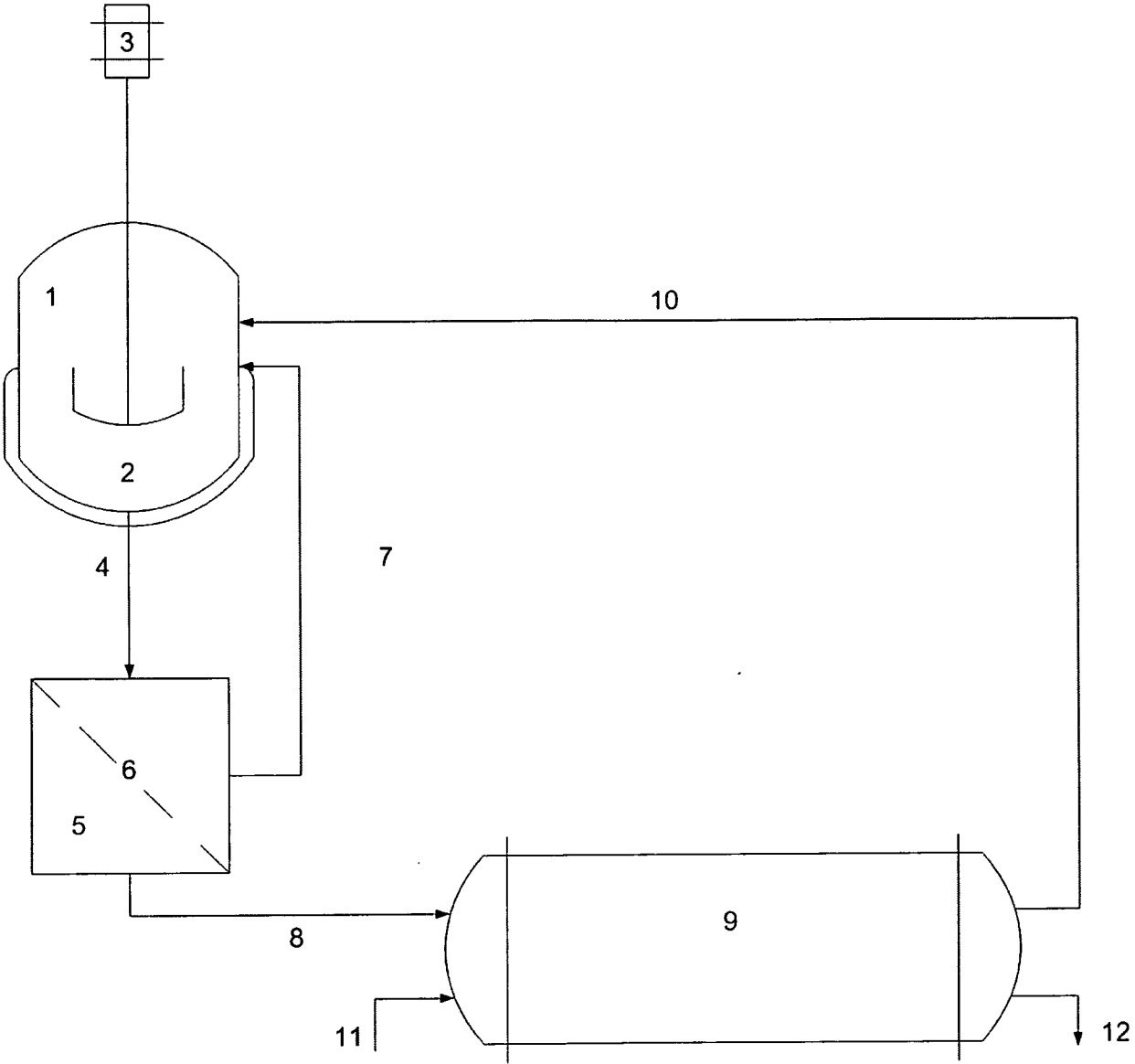


Fig. 1

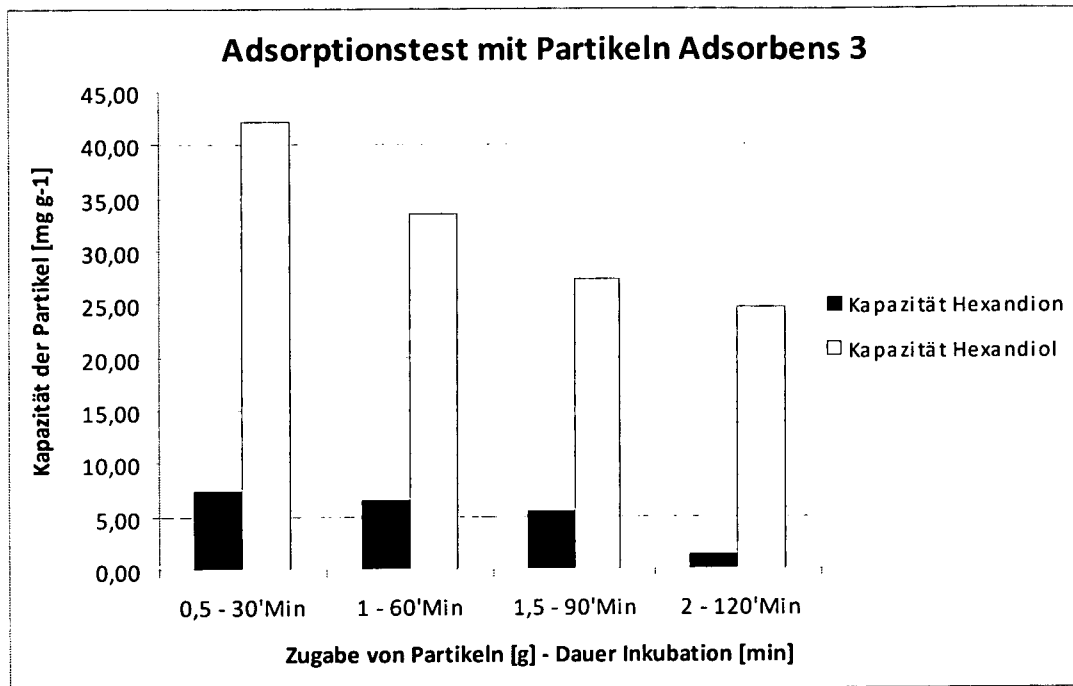


Fig. 2

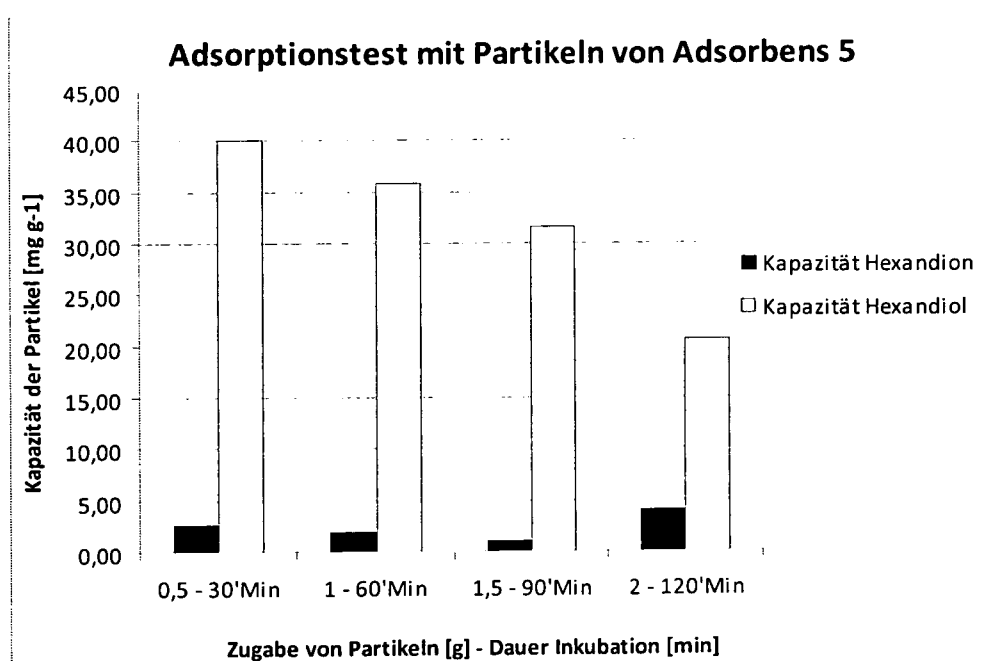


Fig. 3

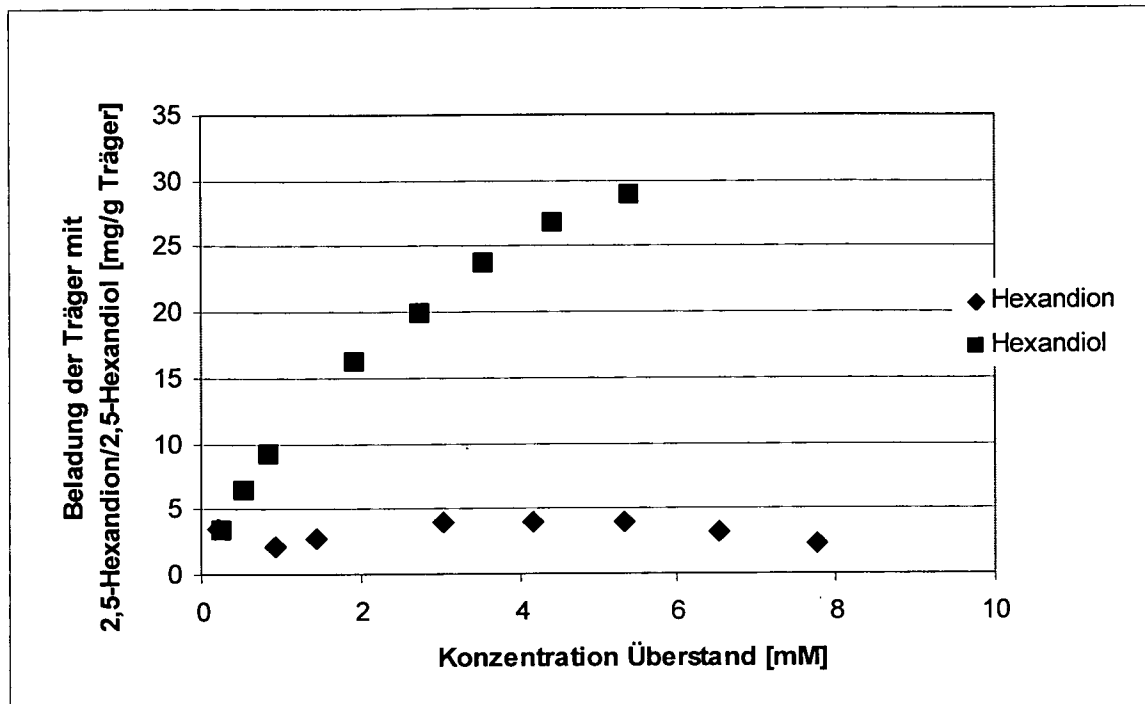


Fig. 4

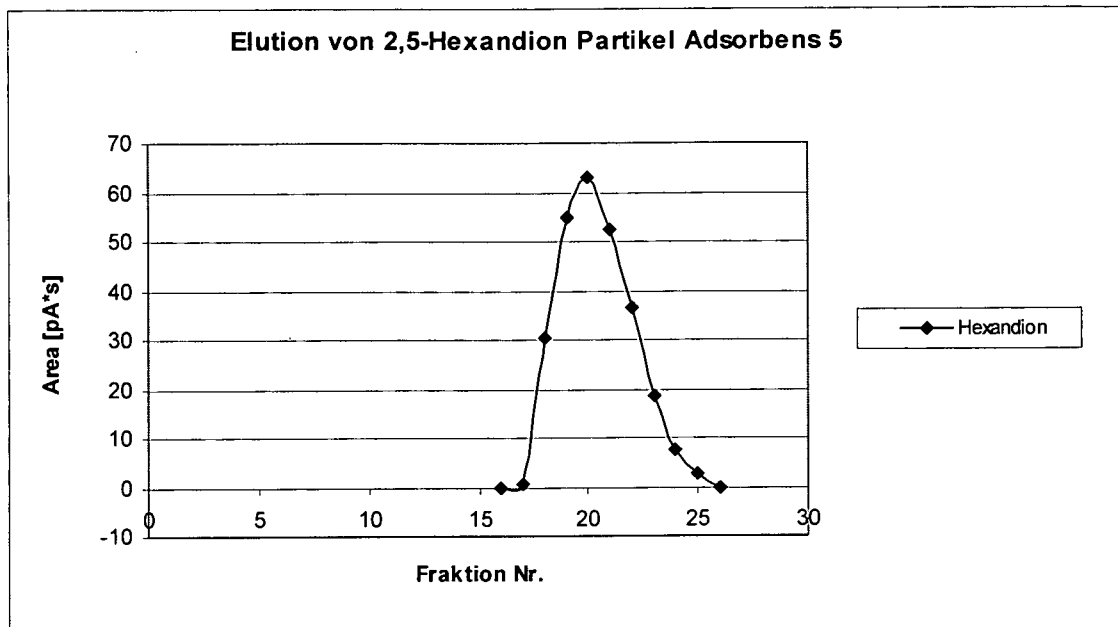


Fig. 5

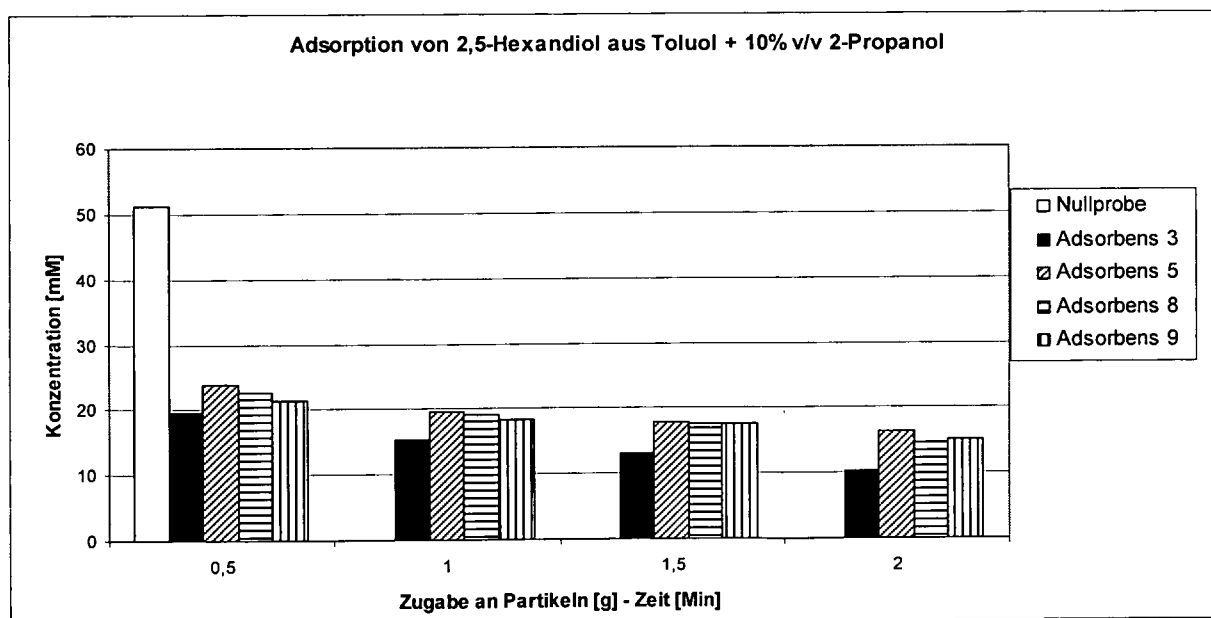


Fig. 6

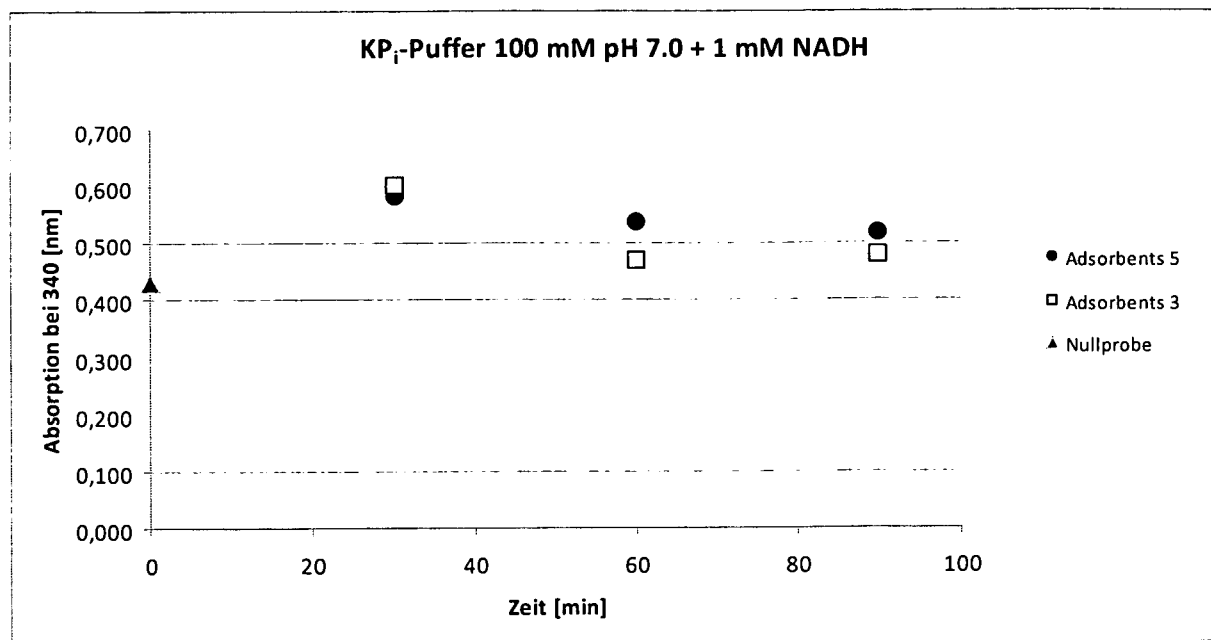


Fig. 7

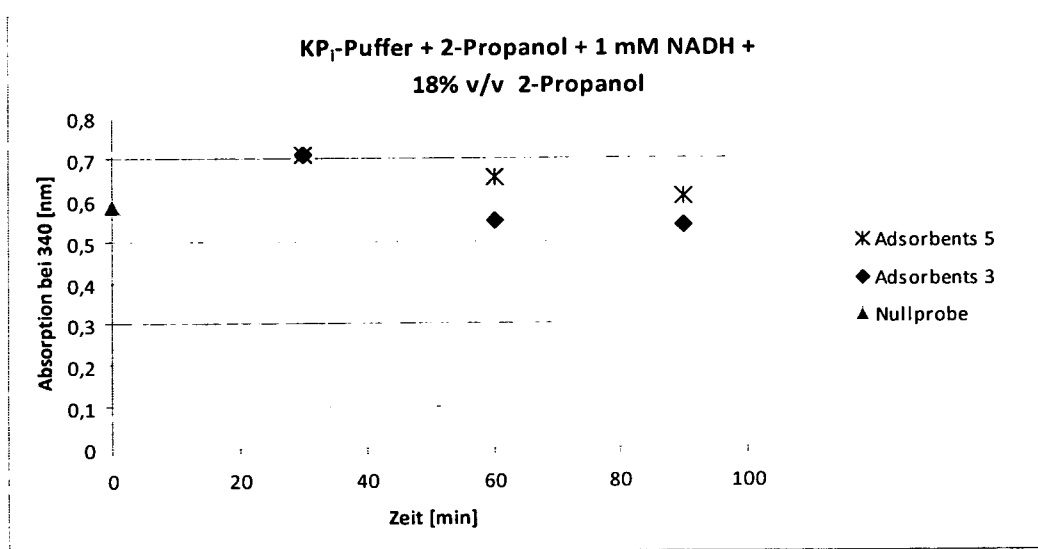
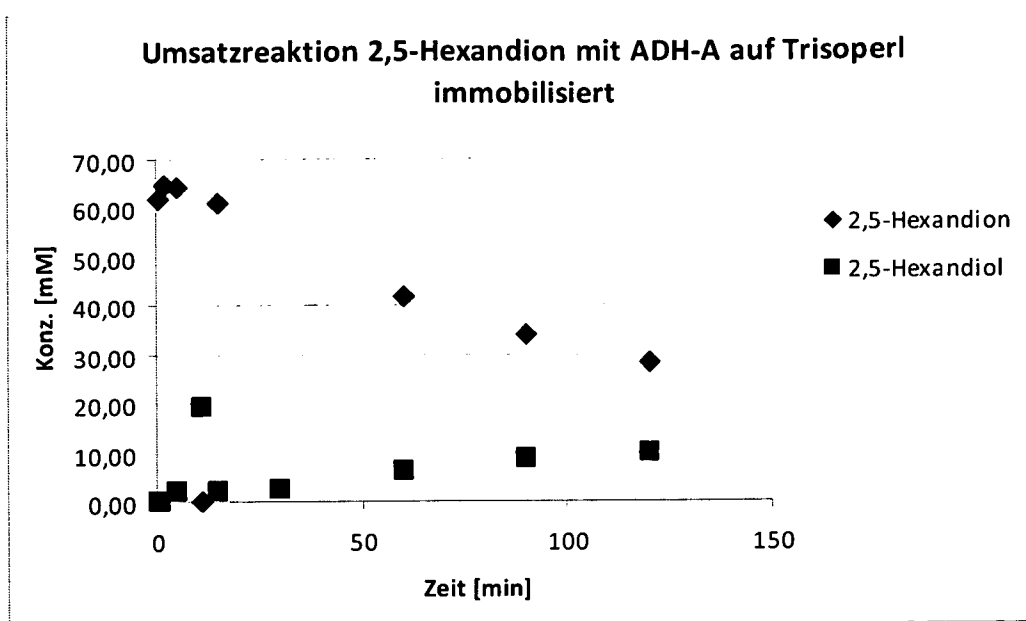


Fig. 8

**Fig. 9**

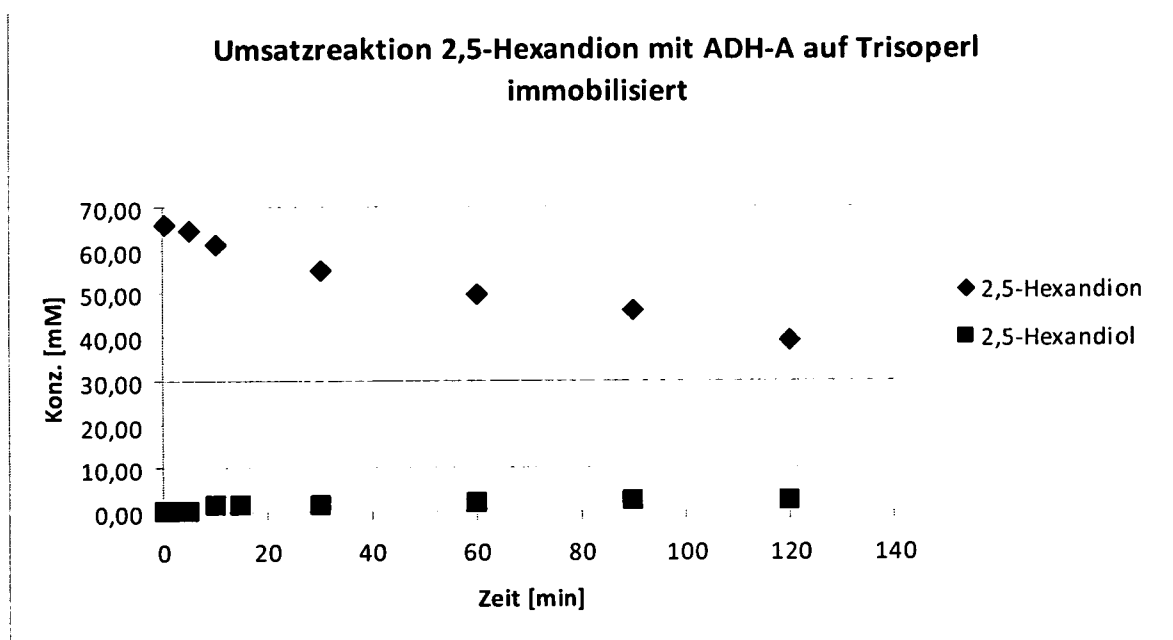


Fig. 10