

(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

21. September 2017 (21.09.2017)



WIPO | PCT



(10) Internationale Veröffentlichungsnummer

WO 2017/157662 A1

(51) Internationale Patentklassifikation:

B01D 69/14 (2006.01) B01D 71/80 (2006.01)
B01D 71/06 (2006.01) C07K 17/00 (2006.01)
B01D 71/76 (2006.01) C08G 77/452 (2006.01)

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP2017/054764

(22) Internationales Anmeldedatum:
1. März 2017 (01.03.2017)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
16160714.8 16. März 2016 (16.03.2016) EP

(71) Anmelder: FRAUNHOFER-GESELLSCHAFT ZUR
FÖRDERUNG DER ANGEWANDTEN FORSCHUNG
E.V. [DE/DE]; Hansastraße 27c, 80686 München (DE).
RHEINISCH-WESTFÄLISCHE TECHNISCHE
HOCHSCHULE (RWTH) AACHEN [DE/DE];
Templergraben 55, 52056 Aachen (DE).

(72) Erfinder: CHARAN, Himanshu; Große Weinmeisterstr.
63f, 14469 Potsdam (DE). GLEBE, Ulrich; Große
Weinmeisterstr. 63f, 14469 Potsdam (DE). BÖKER,
Alexander; Pfeilstr. 8, 13156 Berlin (DE). TUTUS,
Murat; Carl-Dähne-Str. 5, 14469 Potsdam (DE).
SCHWANEBERG, Ulrich; Schievenhövel 43, 4728
Kelmis-Hergenrath (BE). ZHU, Leilei; Vaalserstr. 152B
(Raum 1240A), 52074 Aachen (DE). BOCOLA, Marco;
Adalbersteinweg 166, 52066 Aachen (DE).
MIRZAEIGARAKANI, Tayeb; Roermonderstr. 364B,
52072 Aachen (DE). KINZEL, Julia; Alsenstr. 6, 52068

Aachen (DE). ANAND, Deepak; Republikplatz 15, 52072
Aachen (DE).

(74) Anwalt: PFENNING, MEINIG & PARTNER MBB;
Theresienhöhe 11a, 80339 München (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (soweit nicht anders angegeben, für
jede verfügbare nationale Schutzrechtsart): AE, AG, AL,
AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW,
BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DJ, DK,
DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,
GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IR, IS, JP, KE, KG, KH,
KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY,
MA, MD, ME, MG, MK, MN, MW, MX, MY, MZ, NA,
NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO,
RS, RU, RW, SA, 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, RW, SD, SL, ST,
SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches (AM, AZ, BY, KG,
KZ, 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,
RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM,
GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht (Artikel 21 Absatz
3)

(54) Title: POROUS THIN FILM MEMBRANE, METHOD FOR PRODUCING SAME AND POSSIBLE USES

(54) Bezeichnung : PORÖSE DÜNNSCHICHTMEMBRAN, VERFAHREN ZU IHRER HERSTELLUNG SOWIE
VERWENDUNGSMÖGLICHKEITEN

(57) Abstract: The invention relates to new membranes containing customised membrane transport proteins (such as TCDB-classified proteins) acting as pore-forming proteins (such as FhuA) or peptides acting as pores in the membrane. Preferably, these membranes can be produced either by linking synthesised protein polymer conjugates or by directly linking the pore-forming proteins and peptides. Such membranes are characterised by a number of distinguishing features which previously existing membranes are not able to offer.

(57) Zusammenfassung: Gegenstand der Erfindung sind neuartige Membranen, in denen maßgeschneiderte Membrantransport-Proteine (wie z.B. TCDB klassifizierte Proteine) als porenbildende Proteine (z.B. FhuA) oder Peptide, die als Poren in der Membran fungieren. Die Membranen können vorzugsweise sowohl durch das Verlinken von synthetisierten Protein-Polymer-Konjugaten als auch durch direktes Verlinken der porenbildenden Proteine und Peptide hergestellt werden. Solche Membranen zeichnen sich durch viele herausstechende Merkmale aus, die bisher existierende Membranen nicht bieten können.



WO 2017/157662 A1

Poröse Dünnschichtmembran, Verfahren zu ihrer Herstellung sowie Verwendungs-
möglichkeiten

5 Gegenstand der Erfindung sind neuartige Membranen, in denen maßgeschneiderte Membrantransport-Proteine (wie z.B. TCDB klassifizierte Proteine) als porenbildende Proteine (z.B. FhuA) oder Peptide, die als Poren in der Membran fungieren. Die Membranen können vorzugsweise sowohl durch das Verlinken von synthetisierten Protein-Polymer-Konjugaten als auch durch direktes Verlinken der porenbildende Proteine und Peptide hergestellt werden.
10 Solche Membranen zeichnen sich durch viele herausstechende Merkmale aus, die bisher existierende Membranen nicht bieten können.

15 Eine Klasse von optisch aktiven Verbindungen („chiral“) sind Enantiomere. Von diesen existieren zwei Formen, deren Spiegelbilder identisch sind, die sich aber nicht zur Deckung bringen lassen. Ein sehr anschauliches Beispiel ist die rechte und linke Hand eines Menschen. Für viele Anwendungen wird jedoch eine enantiomerenreine Verbindung benötigt, also nur eine der zwei existierenden Formen. Da diese jedoch häufig in einem Gemisch vorliegen (bei einer

1:1 Mischung spricht man von einem Racemat) und sich chemisch gleich verhalten, wurde eine Reihe von anspruchsvollen Methoden entwickelt, um ein Enantiomerengemisch zu trennen. Enantiomerenreine Verbindungen werden für Arzneistoffe, Nahrungszusatzstoffe, Duftstoffe u.v.m. benötigt.

5

Durch asymmetrische Synthese lässt sich eine Enantiomerenform direkt synthetisieren. Die Nachteile dabei sind, dass oft keine asymmetrische Synthese existiert und deren Entwicklung mit hohen Kosten verbunden ist sowie geringe Ausbeuten vorliegen.

10

Zur Trennung eines solchen Gemisches existieren zurzeit vier wesentliche Methoden. Der Review „Membranes and membrane processes for chiral resolution“, Chem. Soc. Rev. 2008, 37, 1243 gibt hierzu einen Überblick. Die meisten der gegenwärtig angewendeten Trennmethoden sind entweder kostenintensiv oder ineffizient.

15

Die bevorzugte Kristallisation eines Enantiomers eignet sich nur für ca. 5-10 % der Racemate.

20

Außerdem lässt sich eine Form isolieren, indem unterschiedliche Reaktionsraten der beiden Enantiomere mit einer chiralen Einheit ausgenutzt werden. Dies ist jedoch ineffizient und nicht in allen Fällen anwendbar.

25

Die chromatografische Separation ist zwar breit anwendbar, aber teuer und ineffizient.

30

Die membranbasierte Trennung hat die Vorteile geringer Kosten, hoher Kapazität, kontinuierlicher Durchführbarkeit und keine speziellen Apparaturen sind notwendig. Sowohl enantioselektive als auch nicht-enantioselektive Membranen existieren bereits zur Trennung von Enantiomerengemischen, diese unterscheiden sich aber grundsätzlich von den hier beschriebenen erfindungsgemäßen Membranen. Theoretische Arbeiten schlagen eine funktionalisierte Graphenschicht als alternative Methode zur Enantiomerentrennung vor (Angew. Chem. Int. Ed. 2014, 53, 9957).

35

Sämtliche der zuvor genannten Methoden sind jedoch entweder kostenintensiv oder auf eine geringe Substanzmenge beschränkt.

Aus dem Stand der Technik, beispielsweise der US 2011/0046074 A1 sind

Membranen bekannt, in die Kanalproteine integriert sind. Die porenbildende Proteine und Peptide sind dabei allerdings nicht kovalent in die Polymermatrix, die die entsprechenden Membranen bildet, integriert, so dass die Stabilität derartiger Membranen gering ist. Zudem sind die entsprechenden Membranen nur für die Wasseraufbereitung vorbeschrieben.

In der Fachliteratur ist das Einfügen von porenbildenden Proteinen und Peptiden in dünne Polymermembranen von Polymersomen und das anschließende Spreiten zu planaren Membranen beschrieben (Small 2012, 8, 1185). Das direkte Verlinken von porenbildenden Proteinen oder Peptiden oder deren Konjugaten ist jedoch bisher noch nicht beschrieben.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es daher, stabile und hochfunktionale Polymermembranen mit hoher Porendichte zu ergeben, die zudem vielseitig einsetzbar sein sollen. Die Membranen sollen hierbei u.a. eine simple und kostengünstige Durchführung der Trennung von Enantiomerengemischen mit einem hohen Durchsatz verbinden.

Diese Aufgabe wird hinsichtlich einer porösen Dünnschichtmembran mit den Merkmalen des Patentanspruchs 1, hinsichtlich eines Verfahrens zur Herstellung einer entsprechenden Dünnschichtmembran mit den Merkmalen des Patentanspruchs 12 sowie hinsichtlich entsprechender Verwendungsmöglichkeiten mit den Merkmalen des Patentanspruchs 18 gelöst. Die jeweiligen abhängigen Patentansprüche stellen dabei vorteilhafte Weiterbildungen dar.

Die vorliegende Erfindung betrifft somit eine poröse Dünnschichtmembran aufgebaut aus kovalent vernetzten porenbildenden Proteinen und Peptiden die durchgängige Poren in der Dünnschichtmembran ausbilden..

Der besondere Vorteil von kovalent vernetzten porenbildenden Proteinen oder Peptiden als Poren in Membranen besteht darin, dass die Proteine einheitliche Poren in der Membran formen, die sich darüber hinaus noch funktionalisieren lassen und dadurch vielfältige Anwendungen erlauben. Die Membranen lassen sich energie- und ressourcenschonend auf einfache Art und Weise herstellen. Die Effizienz der Membranen ist durch einen hohen Fluss aufgrund der hohen Anzahl der Kanäle und der sehr dünnen Schichtdicken hoch. Somit lassen sich sowohl kostengünstige als auch effiziente Membranen herstellen. Solche Membranen sind Alternativen zu existierenden Systemen für z. B. die Trennung von Enantiomerengemischen.

Die der vorliegenden Erfindung zugrundeliegenden Prinzipien bedienen sich existierender, großtechnischer Synthesen die z.B. ausschließlich auf die simple Isolierung des gewünschten Enantiomers abgestimmt werden können.

5

Dabei lassen sich Membranen mit einer wesentlich höheren Dichte an porenbildenden Proteinen oder Peptiden herstellen als über das Einfügen in Polymersom-Membranen. Des Weiteren wird über das direkte Verlinken von Anfang an eine planare Membran aufgebaut, die direkt für Anwendungen eingesetzt werden kann.

10

Die porenbildenden Proteine oder Peptide dienen als einzigartige einheitliche Poren in der Membran; andere Methoden erlauben zum derzeitigen Stand der Technik nicht die Herstellung von exakt gleich großen Poren im Bereich von wenigen nm Durchmesser. Außerdem ist bei dem beschriebenen Ansatz die Dichte der porenbildenden Proteine oder Peptide in der Membran sehr hoch, was über andere Verfahren ebenfalls nicht gewährleistet werden kann. Die Proteine können sowohl im Innern als auch Äußeren modifiziert werden, so dass verschiedene Funktionalitäten in die Membranen eingebracht werden können. Auf diese Weise können Membranen hergestellt werden, mit denen aufgrund eines ganz spezifisch gestalteten Kanalinneren ein Enantiomerengemisch getrennt werden kann.

15

20

Durch die kovalente Vernetzung ist es möglich, dass sehr hohe Porendichten, die durch die jeweiligen porenbildenden Proteine oder Peptide bedingt sind, realisiert werden können. Bevorzugte Porendichten der erfindungsgemäßen Dünnschichtmembranen liegen dabei im Bereich von $1 \cdot 10^8$ Kanäle/cm² bis $1 \cdot 10^{13}$ Kanäle/cm².

25

Die Porengrößen sind dabei durch das verwendete porenbildende Protein oder Peptid bzw. durch eine ggfs. vorgenommene Funktionalisierung des porenbildenden Proteins oder Peptids bedingt. Typische Porengrößen liegen dabei im Bereich von 0,1 bis 20 nm, bevorzugt von 0,2 bis 10 nm, weiter bevorzugt von 0,25 bis 5 nm und besonders bevorzugt von 0,3 bis 4 nm.

30

35

Besonders bevorzugt ist bei der vorliegenden Erfindung, dass die Porengröße aller Poren im Wesentlichen identisch ist, wobei insbesondere die Abweichung der Porengröße kleiner 0,04 nm ist.

Die Dicke der Dünnschichtmembran kann dabei insbesondere zwischen 1 und 100 nm, bevorzugt zwischen 2 und 50 nm, besonders bevorzugt zwischen 3 und 10 nm liegen.

5 Insbesondere bei extrem dünnen Membranen mit den oben angegebenen Dicken resultiert ein äußerst niedriger Durchflusswiderstand.

10 Porenbildende Proteine und Peptide, die für die Zwecke der erfindungsgemäßen Dünnschichtmembran verwendet werden können, sind dabei insbesondere ausgewählt aus Transmembranproteinen und/oder Proteinen der TCDB-Klassifikation (<http://www.tcdb.org/browse.php>) der Kategorien TC #1-9: TC#1) Channels/Pores, TC#2) Electrochemical Potential-driven Transporters, TC#3) Primary Active Transporters, TC#4) Group Translocators, TC#5) Transmembrane Electron Carriers, TC#8) Accessory Factors Involved in Transport, TC#9) Incompletely Characterized Transport Systems. Bevorzugt ist Klasse TC#1 Kanäle/Poren und insbesondere der Klasse 1.B der β -Fasstruktur-Porine wie beispielsweise FhuA der Klasse TC #1.B.14 ein Vertreter der Outer Membrane Receptor (OMR) Familie). Eine Definition der TCDB-Klassifikation findet sich in Saier M.H., Tran C.V., Barabote R.D.: „TCDB: the Transporter Classification Database for membrane transport protein analyses and information“, Nucleic Acids Res. 34, Nr. Database issue, Januar 2006, S. D181–D186. Für die Zwecke der vorliegenden Erfindung wird auf die Ausführungen dieses Artikels verwiesen, der durch Bezugnahme in die Offenbarung der vorliegenden Anmeldung mit aufgenommen wird.

25 Zusätzlich können Kombinationen aus zwei oder mehreren der zuvor genannten porenbildenden Proteine und Peptide verwendet werden.

30 Die erfindungsgemäßen Dünnschichtmembranen können bevorzugt auf zweierlei Arten hergestellt werden:

Zum Einen durch Vernetzen von Protein/Peptid-Polymer-Konjugaten, die entsprechend vernetzbare Polymerketten tragen.

35 Eine weitere Möglichkeit betrifft ein direktes Vernetzen der porenbildenden Proteine und Peptide mit einem bi- oder multifunktionalen Linker.

Beide Konzepte werden nachfolgend näher beleuchtet.

Die vorstehend erstgenannte bevorzugte Möglichkeit zur Herstellung der erfindungsgemäßen Dünnschichtmembranen sieht vor, dass die Membran durch das Vernetzen von Protein/Peptid-Polymer-Konjugaten hergestellt wird, wobei die Polymere der Protein/Peptid-Polymer-Konjugate vernetzbare Funktionalitäten aufweisen und insbesondere ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus Polymeren oder statistischen Copolymeren mit durch Strahlung, radikalische Reaktionen oder Klick-Chemie-Reaktionen vernetzbaren Gruppen bestehen, bevorzugt Poly(co)acrylamiden und Poly(co)acrylaten mit durch Strahlung, radikalische Reaktionen oder Klick-Chemie-Reaktionen vernetzbaren Substituenten, insbesondere Poly(co)(*N*-isopropylacrylamid)(2-(dimethylmaleimido)-*N*-(ethylacrylamid)), Poly(co)(*N*-isopropylacrylamid)(3,4-dimethyl malein imidobutyl acrylat), Poly(co) (N,N-dimethylaminoethylmethacrylat)(3,4-dimethyl malein imidobutyl methacrylat) oder Poly(co) (vinyl caprolactam) (3,4-dimethyl malein imidobutyl acrylat).

Hierbei ist es insbesondere vorteilhaft, wenn die Polymere der Protein/Peptid-Polymer-Konjugate mittels eines an das porenbildende Protein oder Peptid kovalent gebundenen Initiator, Kettenüberträger oder Katalysator für Ringöffnungs Metathese Polymerisation (ROMP) durch Atom Transfer Radikalische Polymerisation (ATRP), Reversible Additions-Fragmentierungs Kettenübertragungs (RAFT) Polymerisation, Nitroxid-vermittelte Radikalische Polymerisation (NMP), ROMP oder abgewandelte Techniken wie Aktivatoren Generiert durch Elektronenübertragung (AGET) ATRP, Aktivatoren Regeneriert durch Elektronenübertragung (ARGET) ATRP, Einzelelektronenübertragungs Lebende Radikalische Polymerisation (SET-LRP) oder Zusätzliche Aktivatoren und Reduzierungs Agenzien Atom Transfer Radikalische Polymerisation (SARA ATRP) an das porenbildende Protein oder Peptid kovalent angebunden sind bzw. werden. Beispielsweise kann an eine Aminogruppe des porenbildenden Proteins oder Peptids Succinimidyl-3-(2-brom-2-methylpropionamido)-propionat als Initiator gebunden werden.

Alternativ können die erfindungsgemäßen Dünnschichtmembranen bevorzugt ebenso durch Vernetzen von kanonischen und nicht-kanonischen Aminosäurenresten oder glykosylierten Positionen der porenbildenden Proteine oder Peptide mittels mindestens eines bi- oder multifunktionellen Vernetzers hergestellt werden, wobei der Vernetzer bevorzugt ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Dialdehyden, Dicarbonsäuren, *N*-Hydroxysuccinimid-aktivierten Dicarbonsäuren, Disäurehalogeniden, Diamin-

nen und Diiso(thio)cyanaten wie z.B. 1,3-Propiondial, 1,4-Butandial oder 1,5-Pentandial.

5 Ebenso ist es allerdings möglich, dass beide der zuvor genannten reaktiven Prinzipien zur Herstellung der erfindungsgemäßen Dünnschichtmembran angewandt werden, so dass beispielsweise auch direkt miteinander vernetzte porenbildende Proteine oder Peptide neben über vernetzte Polymerketten verknüpfte porenbildende Proteine oder Peptide in der Dünnschichtmembran vorliegen können.

10 Ebenso ist es möglich, dass die porenbildenden Proteine und Peptide an der inneren Porenoberfläche funktionalisiert sind, insbesondere mit Gruppen, die die Porengröße variieren oder mit Ladungen versehen.

15 Bevorzugt ist weiterhin dass die Dünnschichtmembran auf einer porösen Trägerstruktur, insbesondere ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Cellulosenitrat-Membranen, Celluloseacetat-Membranen, Nitrocellulose-Membranen, Mixed Cellulose Ester Membranen, PTFE (Polytetrafluorethylen)-Membranen, Polyethersulfon (PES)-Membranen, Regenerierte Cellulose-Membranen, Polycarbonat-Membranen, Polyamid-Membranen und
20 Polyacrylnitril-Membranen aufgebracht ist.

Die Erfindung betrifft zudem ein Verfahren zur Herstellung einer porösen Dünnschichtmembranen nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei
25 dem porenbildende Proteine und Peptide kovalent miteinander vernetzt werden.

Gemäß einer ersten bevorzugten Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfahrens ist vorgesehen,

30 a) dass mindestens ein Initiator an jedes porenbildende Protein oder Peptid über mindestens einen Aminosäurerest kovalent gebunden wird, beispielsweise Succinimidyl-3-(2-brom-2-methylpropion-amido)-propionat an eine Aminogruppe mindestens einer Aminosäure jedes Porenbildende Proteins oder Peptids kovalent gebunden wird,
35

b) das Initiator-, Kettenüberträger- oder Katalysator-funktionalisierte porenbildende Protein oder Peptid mit Monomeren zur Reaktion gebracht wird, wobei Protein/Peptid-Polymer-Konjugate gebildet

5 werden, bei denen Polymere oder statistische Copolymere mit durch Strahlung, radikalische Reaktionen oder Klick-Chemie-Reaktionen vernetzbaren Gruppen, bevorzugt Poly(co)acrylamide und Poly(co)acrylate mit durch Strahlung, radikalische Reaktionen oder Klick-Chemie-Reaktionen vernetzbaren Substituenten, insbesondere Poly(co)(*N*-isopropylacrylamid)(2-(dimethylmaleimido)-*N*-(ethylacrylamid)), Poly(co)(*N*-isopropylacrylamid)(3,4-dimethylmaleinimidobutylacrylat), Poly(co)(*N,N*-dimethylaminoethylmethacrylat)(3,4-dimethylmaleinimidobutylmethacrylat) oder Poly(co)(vinylcaprolactam)(3,4-dimethylmaleinimidobutylacrylat) mittels eines Initiators, Kettenüberträgers oder Katalysators für ROMP durch ATRP, RAFT Polymerisation, NMP, ROMP oder abgewandelte Techniken wie AGET ATRP, ARGET ATRP, SET-LRP oder SARA ATRP kovalent an das porenbildende Protein oder Peptid gebunden werden, und anschließend

c) eine Vernetzung der Protein/Peptid-Polymer-Konjugate, insbesondere durch Strahlung (z.B. UV-Strahlung), radikalische Reaktionen oder Klick-Chemie-Reaktionen durchgeführt wird.

20 Alternativ oder zusätzlich zu der zuvor genannten Vorgehensweise ist es ebenso möglich, dass die porenbildenden Proteine und Peptide über kanonische und nicht-kanonische Aminosäurenreste oder glykosylierte Positionen mit mindestens einem bi- oder multifunktionellen Vernetzer, bevorzugt einem Vernetzer ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Dialdehyden, 25 Dicarbonsäuren, *N*-Hydroxysuccinimid-aktivierten Dicarbonsäuren, Disäurehalogeniden, Diaminen und Diiso(thio)cyanaten wie z.B. 1,3-Propiondial, 1,4-Butandial oder 1,5-Pentandial kovalent vernetzt werden.

30 Die porenbildenden Proteine und Peptide können bei der erfindungsgemäßen Verfahrensweise beispielsweise auch an der inneren Porenoberfläche funktionalisiert werden, insbesondere mit Gruppen, die die Porengröße variieren oder mit Ladungen versehen.

35 Dabei kann die Funktionalisierung der inneren Porenoberfläche zu jedem beliebigen Zeitpunkt der Verfahrensführung vorgenommen werden, beispielsweise auch vor oder aber erst nach der Vernetzung.

Eine weitere bevorzugte Ausführungsform des erfindungsgemäßen Verfah-

rens sieht vor, dass die Protein/Peptid-Polymer-Konjugate bzw. die porenbildenden Proteine und Peptide vor der Vernetzung an einer Grenzfläche assembliert werden, wobei die Grenzfläche bevorzugt eine flüssig-flüssig Grenzfläche oder die Wasser/Luft-Grenzfläche eines Tropfens auf der Oberfläche einer porösen Trägerstruktur, insbesondere ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Cellulosenitrat-Membranen, Celluloseacetat-Membranen, Nitrocellulose-Membranen, Mixed Cellulose Ester Membranen, PTFE (Polytetrafluorethylen)-Membranen, Polyethersulfon (PES)-Membranen, Regenerierte Cellulose-Membranen, Polycarbonat-Membranen, Polyamid-Membranen und Polyacrylnitril-Membranen darstellt.

Insbesondere erfolgt die Vernetzung sowie ggf. das Anbinden des Initiators, Kettenüberträgers oder ROMP Katalysators und/oder die Herstellung des Protein/Peptid-Polymer-Konjugates in wässriger Lösung. Die wässrige Lösung kann dabei neben Wasser und den Reaktanden auch gewisse Mengen organischer Lösungsmittel, Detergenzien oder oberflächenaktive Stoffe aufweisen.

Die Polymermatrix der Membranen kann durch Verwendung hydrophober Monomere für die Polymerisation, durch Einstellen bestimmter Temperaturen bei Verwendung von thermoresponsiven Polymeren oder durch Verändern des pH-Werts bei Verwendung von pH-responsiven Polymeren so beeinflusst werden, dass die Polymermatrix hydrophob ist oder wird und der Wasserfluss und der Fluss hydrophiler Moleküle bevorzugt durch die Protein-/Peptidkanäle und nicht die Polymermatrix geht.

Zudem betrifft die vorliegende Erfindung Verwendungsmöglichkeiten der erfindungsgemäßen Dünnschichtmembran. Insbesondere eignet sich die Dünnschichtmembran zur Separation von Molekülen, insbesondere nach Ladung, Größe, chemischer Zusammensetzung, intermolekularen Wechselwirkungen und Chiralität, bevorzugt zur Trennung von Enantiomeren oder zur Wasseraufbereitung, insbesondere zur Wasserentsalzung.

Die vorliegende Erfindung wird anhand der nachfolgenden Ausführungen und Erläuterungen näher dargestellt, ohne die Erfindung auf die dargestellten speziellen Ausführungen zu beschränken.

Hierbei zeigen:

Figur 1 eine schematische Aufsicht auf eine planare Membran gemäß der vor-

liegenden Erfindung

Figur 2 eine beispielhafte Synthesemöglichkeit zur Herstellung einer erfindungsgemäßen Dünnschichtmembran

5

Figur 3 die Prinzipien zur Herstellung einer erfindungsgemäßen Dünnschichtmembran auf einer porösen Trägeroberfläche

Figur 4 einen Einblick in einen modifizierten Kanal eines porenbildenden Proteins oder Peptids einer erfindungsgemäßen Membran für die Anwendungsmöglichkeit zur Trennung von Enantiomergemischen.

10

Bislang existiert kein Verfahren, um Membranen mit großer Dichte an von porenbildenden Proteinen oder Peptiden, insbesondere Transmembranproteinen, die durchgängige Poren in der Dünnschichtmembran ausbilden mit exakt einheitlicher Größe im Bereich weniger nm herzustellen, das auf einem anderen Weg als dem Ausnutzen der Einförmigkeit von porenbildenden Proteinen oder Peptiden beruht.

15

Zudem existieren keine Membranen, in denen die porenbildenden Proteine und Peptide kovalent gebunden sind, so dass durchgängige Poren in der Dünnschichtmembran ausgebildet werden.

20

Dieser Missstand wird durch die vorliegende Erfindung beseitigt.

25

Figur 1 zeigt eine Aufsicht auf eine planare Dünnschichtmembran gemäß der vorliegenden Erfindung, mit hoher Dichte an verlinkten porenbildenden Proteinen oder Peptiden. Die porenbildenden Proteine und Peptide weisen dabei typischerweise einen Poreninnendurchmesser von 1 bis 3 nm auf und sind über ein Netzwerk von Polymeren miteinander kovalent verbunden. Alternativ hierzu (nicht dargestellt) können die porenbildenden Proteine und Peptide auch direkt über bi- oder multifunktionelle, monomolekulare Linker miteinander verknüpft sein.

30

Membranen, in denen porenbildende Proteine und Peptide wie FhuA mit geöffnetem Kanal von ca. 1-3 nm Durchmesser mit hoher Dichte sitzen, lassen sich auf zwei verschiedene Weisen herstellen: durch Vernetzen der Polymerketten von Protein/Peptid-Polymer-Konjugaten (Fig. 2) sowie durch direktes Vernetzen der porenbildenden Proteine und Peptide mit einem bi-

35

oder multifunktionalen Linker.

Die Darstellung von Protein/Peptid-Polymer Konjugaten ist vielzählig mit globulären und löslichen Proteinen sowie Viren beschrieben (einen Überblick geben Polym. Chem. 2015, 6, 5143 und Chem. Commun. 2011, 47, 2212). Die Konjugatsynthese mit porenbildenden Proteinen oder Peptiden durch den *grafting-from* Ansatz ist jedoch nicht bekannt. Von den verschiedenen Strategien zur Synthese von Protein/Peptid-Polymer Konjugaten hat das verwendete *grafting-from* den Vorteil, dass eine vergleichsweise hohe Anzahl an Polymerketten von der Protein-/Peptidoberfläche gewachsen werden kann.

Figur 2 zeigt die beispielhafte Synthese von Protein/Peptid-Polymer Konjugaten durch Anbinden einer Initiatoreinheit an Aminosäurereste (links) und anschließende Polymersynthese von der Protein-/Peptidoberfläche. Im Beispiel ist die Copolymerisation von *N*-Isopropylacrylamid (NIPAAm) mit ca. 5 % 2-(Dimethylmaleimido)-*N*-ethylacrylamid (DMIAAm) gezeigt. Die Seitenketten von DMIAAm sind in einer [2+2]-Cycloaddition unter UV-Licht vernetzbar. Durch die mittels UV-Licht erfolgende Vernetzung wird dabei die finale Membran erzeugt.

Für die in Fig. 2 gezeigte Synthese wird zunächst ein Initiator für die Polymerisation an einen Aminosäurerest gebunden, im Beispiel an die Lysinreste von FhuA. Die anschließende Polymerisation ist von NIPAAm gezeigt, kann aber auch mit anderen Monomeren erfolgen. Um das Vernetzen der Polymerketten zu ermöglichen, wird ein entsprechendes Comonomer wie DMIAAm in etwa 5 % hinzugegeben. Die Maleimid-Einheiten können durch Bestrahlung mit UV-Licht in einer [2+2]-Cycloaddition Polymerketten verlinken.

Porenbildende Proteine und Peptide haben durch ihre hydrophilen und hydrophoben Bereiche eine intrinsische Grenzflächenaktivität. Im Vergleich zu unmodifizierten Proteinen ist die Grenzflächenaktivität von Protein/Peptid-Polymer Konjugaten in der Regel nochmals deutlich höher. Aus stark verdünnter Lösung selbstassemblieren die Konjugate an der Luft-Wasser-Grenzfläche und können durch Verlinken der Polymerketten untereinander zu einer stabilen, dünnen Membran verbunden werden. Nach Verdampfen der Wasser-Phase liegt diese Membran planar auf dem verwendeten Support auf.

In diesem Zusammenhang zeigt beispielsweise Figur 3 das Prinzip der Selbst-

assemblierung von Membranprotein-Polymer Konjugaten an der Wasser-Luft-Grenzfläche und Verlinken der Polymerketten. Nach Verdampfen des Wassers sitzt die Membran auf einem porösen Träger.

5 Neben dem Verlinken von kovalent angebundenen Polymerketten können porenbildende Proteine und Peptide auch direkt durch Vernetzer verlinkt werden. Die Vernetzer müssen über mindestens zwei von einem kurzen Abstandhalter getrennten Funktionalitäten verfügen, die mit Aminosäureresten reagieren. Ein Beispiel ist Glutaraldehyd, welches mit den Aminogruppen der
10 Aminosäure Lysin reagiert. Auf diese Weise ist der Abstand der porenbildende Proteine oder Peptide in der Membran nochmals geringer und die größtmögliche Dichte der Proteinporen lässt sich erreichen.

15 Eine mögliche Anwendung solcher Membranen ist die Nutzung zur Trennung von Enantiomerengemischen. Die Komponenten sind kleiner als der Kanaldurchmesser, um einen Durchfluss der Enantiomere zu gewährleisten, wobei es bevorzugt nur einem Enantiomer erlaubt ist, den Kanal zu passieren. Dies wird durch chemische und/oder genetische Modifikationen im Kanalinneren erreicht, welche unterschiedlich mit den verschiedenen Enantiomeren interagieren. Mögliche Stoffklassen sind enantiomere Aminosäuren aber auch
20 Amine, Epoxide und Terpene. Fig. 4 zeigt beispielhaft Tryptophan im Kanal für eine chirale Trennung von Aminosäuren.

25 Figur 4 zeigt dabei verschiedene Strategien zum FhuA-Engineering um A) sterisch nicht anspruchsvolle (FhuA-Wildtyp) und B) sterisch anspruchsvolle (FhuA Δ 1-159 mit Fluorescein-Markierung) Enantiomerengemische zu trennen (Querschnittsansicht von FhuA).

30 Technische Membranen mit kovalent gebundenen porenbildenden Proteinen oder Peptiden als Poren sind eine neue Klasse von Membranen. Das Hauptanwendungsgebiet sind Separationen aller Art. Durch die einheitliche Größe der Protein-/Peptidkanäle ist zunächst eine Separation aufgrund eines Größenausschlusses in bisher nicht erreichter Präzision möglich. Partikel, deren Größe unter den 2-3 nm Durchmesser der Poren liegen, können die Membran
35 passieren, während größere Partikel zurückgehalten werden. Zudem ermöglicht der niedrige Durchflusswiderstand bisher unerreichte Flüsse über die Membran bei niedrigem Energiebedarf. Durch das Einbringen von Funktionalitäten in das Kanalinnere können Separationen durchgeführt werden, die über einen reinen Größenausschluss hinausgehen. Hier liegt ein wesentliches An-

wendungsgebiet in der Trennung eines Enantiomergemisches. Die Membranen erlauben also einen neuen Ansatz zur Herstellung enantiomerenreiner Verbindungen, welcher gegenüber den existierenden Verfahren einen deutlichen Kosten- und Effizienz-Vorteil bietet.

5

Patentansprüche

10

1. Poröse Dünnschichtmembran aufgebaut aus kovalent vernetzten porenbildenden Proteinen oder Peptiden, die durchgängige Poren in der Dünnschichtmembran ausbilden.

2. Dünnschichtmembran nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die Dünnschichtmembran eine Porendichte im Bereich von $1 \cdot 10^8$ Kanäle/cm² bis $1 \cdot 10^{13}$ Kanäle/cm² aufweist.

15

3. Dünnschichtmembran nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Porengröße im Bereich von 0,1 bis 20 nm, bevorzugt von 0,2 bis 10 nm, weiter bevorzugt von 0,25 bis 5 nm und besonders bevorzugt von 0,3 bis 4 nm liegt.

20

4. Dünnschichtmembran nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Porengröße aller Poren im Wesentlichen identisch ist, wobei insbesondere die Abweichung der Porengröße kleiner 0,04 nm ist.

25

5. Dünnschichtmembran nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Dicke der Dünnschichtmembran zwischen 1 und 100 nm, bevorzugt zwischen 2 und 50 nm, besonders bevorzugt zwischen 3 und 10 nm beträgt.

30

6. Dünnschichtmembran nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die porenbildenden Proteine oder Peptide ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus Transmembranproteinen, Proteinen oder Peptiden der TCDB-Klassifikation-Kategorien TC#1-9, bevorzugt der Klasse TC#1 Kanäle/Poren und insbesondere der Klasse TC#1.B der β -Fasstruktur-Porine wie beispielsweise FhuA der Klasse TC #1.B.14 ein Vertreter der

Outer Membrane Receptor (OMR) Familie) sowie Kombinationen aus zwei oder mehreren der zuvor genannten porenbildenden Proteinen oder Peptiden.

- 5 7. Dünnschichtmembran nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Membran durch das Vernetzen von Protein/Peptid-Polymer-Konjugaten hergestellt wird, wobei die Polymere der Protein/Peptid-Polymer-Konjugate vernetzbare Funktionalitäten aufweisen und insbesondere ausgewählt sind aus der Gruppe bestehend aus Polymeren oder statistischen Copolymeren mit durch Strahlung, radikalische Reaktionen oder Klick-Chemie-Reaktionen vernetzbaren Gruppen bestehen, bevorzugt Poly(co)acrylamiden und Poly(co)acrylaten mit durch Strahlung, radikalische Reaktionen oder Klick-Chemie-Reaktionen vernetzbaren Substituenten, insbesondere Poly(co)(*N*-isopropylacrylamid)(2-(dimethylmaleimido)-*N*-(ethylacrylamid)), Poly(co)(*N*-isopropylacrylamid)(3,4-dimethyl maleinimidobutyl acrylat), Poly(co) (*N,N*-dimethylaminoethylmethacrylat)-(3,4-dimethyl maleinimidobutyl methacrylat) oder Poly(co) (vinyl caprolactam) (3,4-dimethyl maleinimidobutyl acrylat).
- 10
- 15
- 20 8. Dünnschichtmembran nach einem der beiden vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Polymere der Protein/Peptid-Polymer-Konjugate mittels eines an das porenbildende Protein oder Peptid kovalent gebundenen Initiator, Kettenüberträger oder Katalysator für Ringöffnungs Metathese Polymerisation (ROMP) durch Atom Transfer Radikalische Polymerisation (ATRP), Reversible Additions-Fragmentierungs Kettenübertragungs (RAFT) Polymerisation, Nitroxid-vermittelte Radikalische Polymerisation (NMP), ROMP oder abgewandelte Techniken wie Aktivatoren Generiert durch Elektronenübertragung (AGET) ATRP, Aktivatoren Regeneriert durch Elektronenübertragung (ARGET) ATRP, Einzelelektronenübertragungs Lebende Radikalische Polymerisation (SET-LRP) oder Zusätzliche Aktivatoren und Reduzierungs Agenzien Atom Transfer Radikalische Polymerisation (SARA ATRP) an das porenbildende Protein oder Peptid kovalent ange-
- 25
- 30

bunden sind bzw. werden, insbesondere mittels Succinimidyl-3-(2-brom-2-methylpropionamido)-propionat.

- 5 9. Dünnschichtmembran nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Membran durch Vernetzen von Aminosäurenresten oder Glykosylierungsgruppen der porenbildenden Proteine oder Peptide mittels mindestens eines bi- oder multifunktio-
- 10 nellen Vernetzers hergestellt wird, wobei der Vernetzer bevorzugt ausgewählt ist aus der Gruppe bestehend aus Dialdehyden, Dicarbonsäuren, *N*-Hydroxysuccinimid-aktivierten Dicarbonsäuren, Disäurehalogeniden, Diaminen und Diiso(thio)cyanaten wie z.B. 1,3-Propiondial, 1,4-Butandial oder 1,5-Pentandial.
- 15 10. Dünnschichtmembran nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die porenbildenden Proteine oder Peptide an der inneren Porenoberfläche funktionalisiert sind, insbesondere mit Gruppen, die die Porengröße variieren oder mit Ladungen versehen.
- 20 11. Dünnschichtmembran nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, dass die Dünnschichtmembran auf einer porösen Trägerstruktur, insbesondere ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Cellulosenitrat-Membranen, Celluloseacetat-Membranen, Nitrocellulose-Membranen, Mixed Cellulose Ester Membranen, PTFE (Polytetrafluorethylen)-Membranen, Polyethersulfon (PES)-Membranen, Regenerierte Cellulose-Membranen, Polycarbonat-Membranen, Polyamid-Membranen und Polyacrylnitril-Membranen
- 25 aufgebracht ist.
12. Verfahren zur Herstellung einer porösen Dünnschichtmembran nach einem der vorhergehenden Ansprüche, bei dem porenbildende Proteine oder Peptide kovalent miteinander vernetzt werden.
- 30 13. Verfahren nach vorhergehendem Anspruch, bei dem
- a) mindestens ein Initiator, Kettenüberträger oder Katalysator für ROMP an jedes porenbildende Protein oder Peptid über mindes-

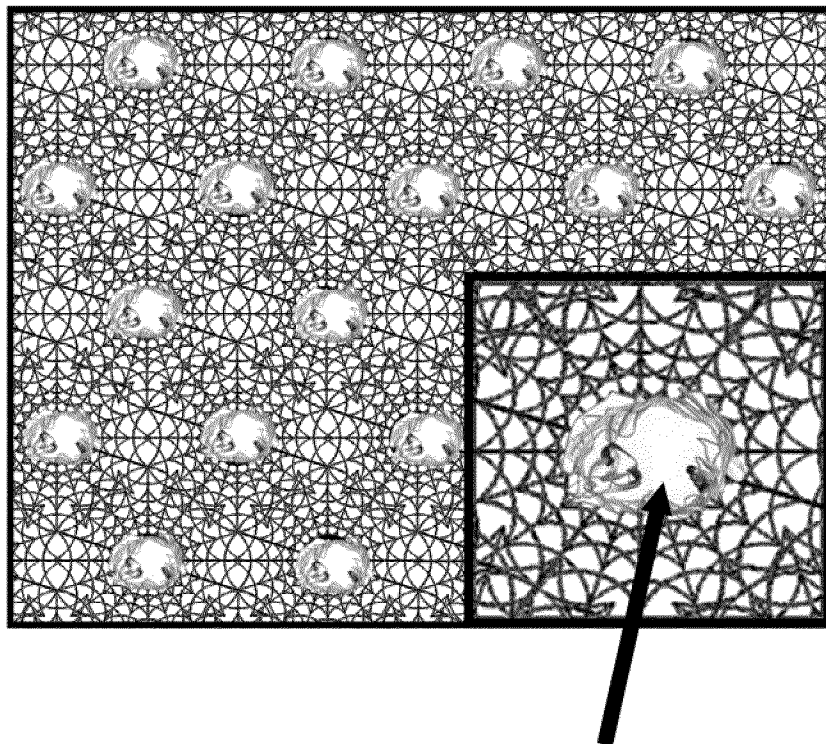
tens einen Aminosäurerest kovalent gebunden wird, beispielsweise Succinimidyl-3-(2-brom-2-methylpropionamido)-propionat an eine Aminogruppe mindestens einer Aminosäure jedes porenbildenden Proteins oder Peptids kovalent gebunden wird,

- 5 b) das Initiator-, Kettenüberträger- oder Katalysator- funktionalisierte porenbildende Protein oder Peptid mit Monomeren zur Reaktion gebracht wird, wobei Protein/Peptid-Polymer-Konjugate gebildet werden, bei denen Polymere oder statistische Copolymere mit durch Strahlung, radikalische Reaktionen oder Klick-Chemie-
- 10 Reaktionen vernetzbaren Gruppen, bevorzugt Poly(co)acrylamide und Poly(co)acrylate mit durch Strahlung, radikalische Reaktionen oder Klick-Chemie-Reaktionen vernetzbaren Substituenten, insbesondere Poly(co)(N-isopropylacrylamid)(2-(dimethylmaleimido)-N-(ethylacrylamid)), Poly(co)(N-isopropylacrylamid)(3,4-dimethyl
- 15 malein imidobutyl acrylat), Poly(co) (N,N-dimethylaminoethyl-methacrylat)(3,4-dimethyl malein imidobutyl methacrylat) oder Poly(co) (vinyl caprolactam) (3,4-dimethyl malein imidobutyl acrylat) mittels eines Initiators, Kettenüberträgers oder Katalysators für ROMP durch ATRP, RAFT Polymerisation, NMP, ROMP oder
- 20 abgewandelte Techniken wie AGET ATRP, ARGET ATRP, SET-LRP oder SARA ATRP kovalent an das porenbildende Protein oder Peptid gebunden werden, und anschließend
- 25 c) eine Vernetzung der Protein/Peptid-Polymer-Konjugate, insbesondere durch Strahlung, radikalische Reaktionen oder Klick-Chemie-Reaktionen durchgeführt wird.
14. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 13, bei dem die porenbildenden Proteine und Peptide über die Aminosäurereste mit mindestens einem bi- oder multifunktionellen Vernetzer, bevorzugt einem Vernetzer ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Dialdehyden, Dicarbonsäuren, Disäurehalogeniden und Diaminen wie z.B. 1,3-Propiondial, 1,4-Butandial oder 1,5-Pentandial kovalent vernetzt werden.
- 30

15. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass die porenbildenden Proteine oder Peptide an der inneren Porenoberfläche funktionalisiert werden, insbesondere mit Gruppen, die die Porengröße variieren oder mit Ladungen versehen.
- 5 16. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass die Protein/Peptid-Polymer-Konjugate bzw. die porenbildenden Proteine oder Peptide vor der Vernetzung an einer Grenzfläche assembliert werden, wobei die Grenzfläche bevorzugt eine flüssig-flüssig Grenzfläche oder die Wasser/Luft-Grenzfläche eines Tropfens auf der
- 10 Oberfläche einer porösen Trägerstruktur, insbesondere ausgewählt aus der Gruppe bestehend aus Cellulosenitrat-Membranen, Celluloseacetat-Membranen, Nitrocellulose-Membranen, Mixed Cellulose Ester Membranen, PTFE (Polytetrafluorethylen)-Membranen, Polyethersulfon (PES)-Membranen, Regenerierte Cellulose-
- 15 Membranen, Polycarbonat-Membranen, Polyamid-Membranen und Polyacrylnitril-Membranen darstellt.
17. Verfahren nach einem der Ansprüche 12 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass die Vernetzung sowie ggf. das Anbinden des Initiators und/oder die Herstellung des Protein/Peptid-Polymer-Konjugates in
- 20 wässriger Lösung erfolgt.
18. Verwendung der porösen Dünnschichtmembran nach einem der Ansprüche 1 bis 11 zur Separation von Molekülen, insbesondere nach Ladung, Größe, chemischer Zusammensetzung, intermolekularen Wechselwirkungen und Chiralität, bevorzugt zur Trennung von
- 25 Enantiomeren oder zur Wasseraufbereitung, insbesondere zur Wasserentsalzung.

Fig. 1

Aufsicht



Innerer Porendurchmesser FhuA Δ 1-160: 2.5-3.0 nm

Fig. 2

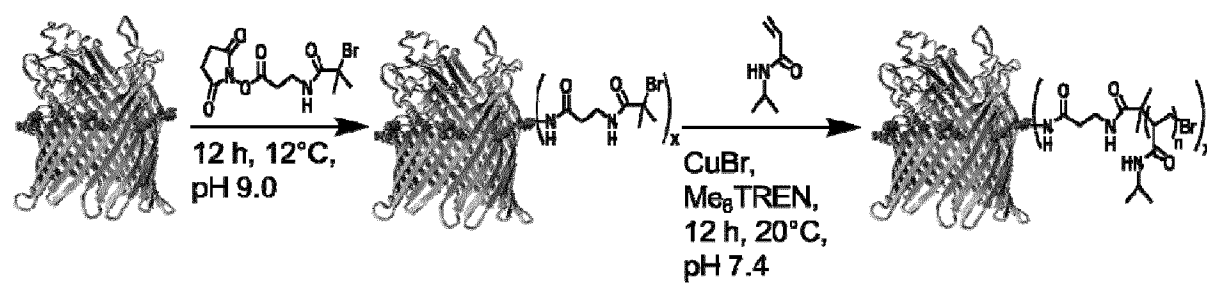


Fig. 3

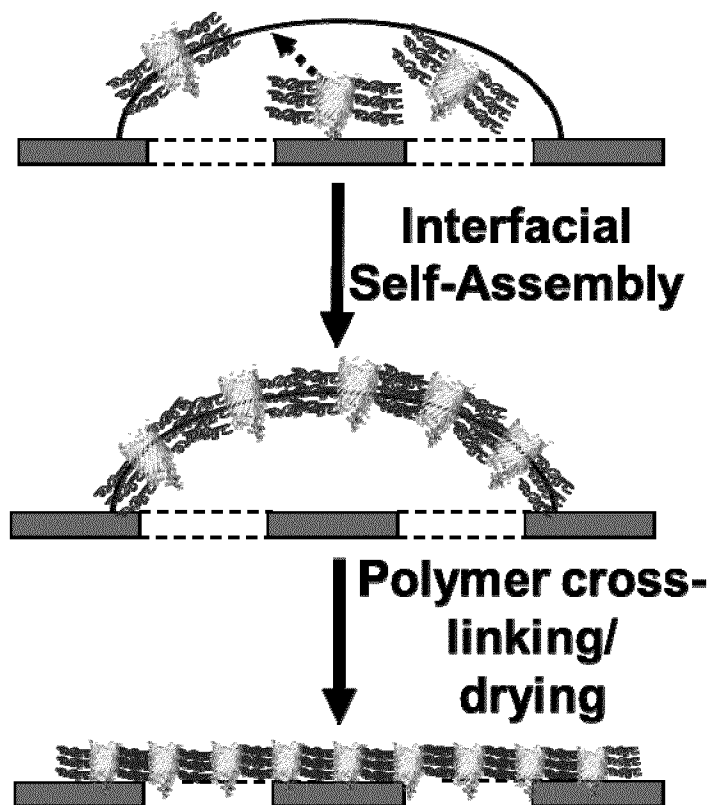
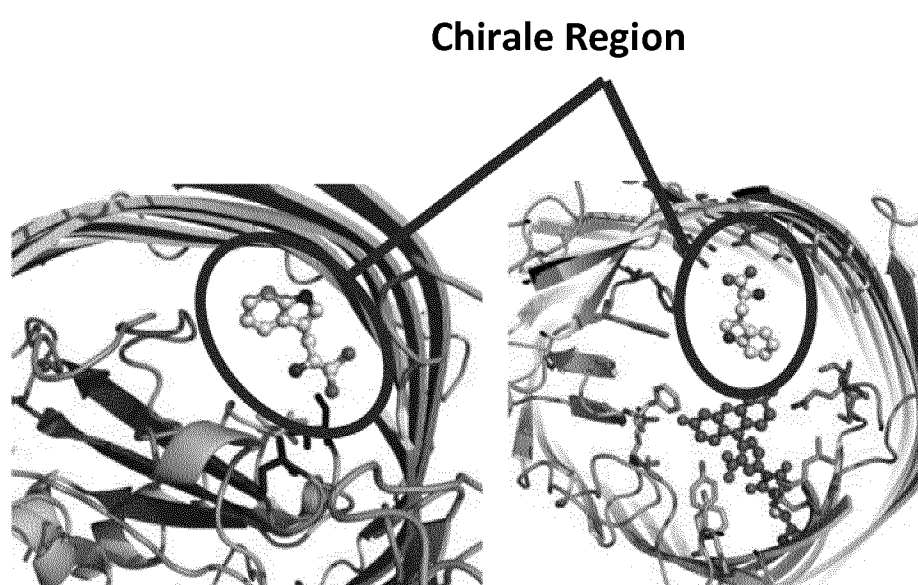


Fig. 4



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2017/054764

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

INV. B01D69/14 B01D71/06 B01D71/76 B01D71/80 C07K17/00
C08G77/452

ADD.

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

B01D C07K C08G

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 2016/029308 A1 (UNIV ALBERTA [CA]) 3 March 2016 (2016-03-03)	1-9, 11-14, 16,18
Y	claim 1 paragraph [0062] figure 2A figure 2B claim 3	10,15,17
Y	WO 2015/144724 A1 (APPLIED BIOMIMETIC AS [DK]) 1 October 2015 (2015-10-01) claim 1 claim 7 ----- -/-	17



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

* Special categories of cited documents :

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

11 May 2017

Date of mailing of the international search report

19/05/2017

Name and mailing address of the ISA/

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel. (+31-70) 340-2040,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Hoyer, Michael

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No
PCT/EP2017/054764

C(Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	Izabela Koter: "SEPARATION OF ENANTIOMERS BY CHIRALLY MODIFIED MEMBRANES", 31 December 2008 (2008-12-31), XP055296457, Retrieved from the Internet: URL: http://www.iaea.org/inis/collection/NCILCollectionStore/_Public/39/093/39093574.pdf [retrieved on 2016-08-19] page 42, line 30 - line 39 -----	10,15
A	WO 2013/180659 A1 (UNIV SINGAPORE [SG]) 5 December 2013 (2013-12-05) the whole document -----	1-18
A	EP 2 218 495 A1 (MT TECHNOLOGIES INC [US]) 18 August 2010 (2010-08-18) the whole document -----	1-18
A	WO 2009/013115 A2 (BASF SE [DE]; SCHWANEBERG ULRICH [DE]) 29 January 2009 (2009-01-29) the whole document -----	1-18
A	US 2014/263036 A1 (PENG XINSHEN [JP] ET AL) 18 September 2014 (2014-09-18) the whole document -----	1-18
X,P	WO 2017/030502 A1 (NANYANG TECH UNIV [SG]) 23 February 2017 (2017-02-23) paragraph [0053] claim 1 -----	1,12

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International application No

PCT/EP2017/054764

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 2016029308 A1	03-03-2016	CA 2935144 A1 WO 2016029308 A1	03-03-2016 03-03-2016
WO 2015144724 A1	01-10-2015	AU 2015238407 A1 CA 2943429 A1 CN 106163647 A EP 3122444 A1 KR 20160137624 A SG 11201607375S A US 2017113193 A1 WO 2015144724 A1	22-09-2016 01-10-2015 23-11-2016 01-02-2017 30-11-2016 28-10-2016 27-04-2017 01-10-2015
WO 2013180659 A1	05-12-2013	US 2015136690 A1 WO 2013180659 A1	21-05-2015 05-12-2013
EP 2218495 A1	18-08-2010	AU 2003265250 A1 CA 2497273 A1 CA 2833718 A1 EP 1572958 A2 EP 2218495 A1 IL 166509 A JP 4444917 B2 JP 2006512204 A KR 20050032578 A KR 20070114316 A US 2004049230 A1 WO 2004011600 A2	16-02-2004 05-02-2004 05-02-2004 14-09-2005 18-08-2010 26-11-2008 31-03-2010 13-04-2006 07-04-2005 30-11-2007 11-03-2004 05-02-2004
WO 2009013115 A2	29-01-2009	CN 101854917 A EP 2180881 A2 JP 2010533669 A US 2010189777 A1 WO 2009013115 A2	06-10-2010 05-05-2010 28-10-2010 29-07-2010 29-01-2009
US 2014263036 A1	18-09-2014	CN 101862609 A CN 101918119 A EP 2168669 A1 EP 2179779 A2 JP 5278939 B2 JP 2009131725 A US 2010140163 A1 US 2010219120 A1 US 2014263036 A1 WO 2009008556 A1	20-10-2010 15-12-2010 31-03-2010 28-04-2010 04-09-2013 18-06-2009 10-06-2010 02-09-2010 18-09-2014 15-01-2009
WO 2017030502 A1	23-02-2017	NONE	

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES		
INV.	B01D69/14 C08G77/452	B01D71/06 B01D71/76 B01D71/80 C07K17/00
ADD.		
Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPC) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPC		
B. RECHERCHIERTE GEBIETE		
Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole) B01D C07K C08G		
Recherchierte, aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen		
Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe) EPO-Internal, WPI Data		
C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 2016/029308 A1 (UNIV ALBERTA [CA]) 3. März 2016 (2016-03-03)	1-9, 11-14, 16,18 10,15,17
Y	Anspruch 1 Absatz [0062] Abbildung 2A Abbildung 2B Anspruch 3	
Y	WO 2015/144724 A1 (APPLIED BIOMIMETIC AS [DK]) 1. Oktober 2015 (2015-10-01) Anspruch 1 Anspruch 7	17
	----- -/-	
☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen ☒ Siehe Anhang Patentfamilie		
* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen : "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist "E" frühere Anmeldung oder Patent, die bzw. das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt) "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist "T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist "X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden "Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist "&" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist		
Datum des Abschlusses der internationalen Recherche		Absendedatum des internationalen Recherchenberichts
11. Mai 2017		19/05/2017
Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016		Bevollmächtigter Bediensteter Hoyer, Michael

C. (Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
Y	Izabela Koter: "SEPARATION OF ENANTIOMERS BY CHIRALLY MODIFIED MEMBRANES", 31. Dezember 2008 (2008-12-31), XP055296457, Gefunden im Internet: URL:http://www.iaea.org/inis/collection/NCILCollectionStore/_Public/39/093/39093574.pdf [gefunden am 2016-08-19] Seite 42, Zeile 30 - Zeile 39	10,15
A	WO 2013/180659 A1 (UNIV SINGAPORE [SG]) 5. Dezember 2013 (2013-12-05) das ganze Dokument	1-18
A	EP 2 218 495 A1 (MT TECHNOLOGIES INC [US]) 18. August 2010 (2010-08-18) das ganze Dokument	1-18
A	WO 2009/013115 A2 (BASF SE [DE]; SCHWANEBERG ULRICH [DE]) 29. Januar 2009 (2009-01-29) das ganze Dokument	1-18
A	US 2014/263036 A1 (PENG XINSHEN [JP] ET AL) 18. September 2014 (2014-09-18) das ganze Dokument	1-18
X,P	WO 2017/030502 A1 (NANYANG TECH UNIV [SG]) 23. Februar 2017 (2017-02-23) Absatz [0053] Anspruch 1	1,12

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP2017/054764

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument			Datum der Veröffentlichung		Mitglied(er) der Patentfamilie		Datum der Veröffentlichung	
WO 2016029308	A1	03-03-2016	CA	2935144	A1		03-03-2016	
			WO	2016029308	A1		03-03-2016	

WO 2015144724	A1	01-10-2015	AU	2015238407	A1		22-09-2016	
			CA	2943429	A1		01-10-2015	
			CN	106163647	A		23-11-2016	
			EP	3122444	A1		01-02-2017	
			KR	20160137624	A		30-11-2016	
			SG	11201607375S	A		28-10-2016	
			US	2017113193	A1		27-04-2017	
			WO	2015144724	A1		01-10-2015	

WO 2013180659	A1	05-12-2013	US	2015136690	A1		21-05-2015	
			WO	2013180659	A1		05-12-2013	

EP 2218495	A1	18-08-2010	AU	2003265250	A1		16-02-2004	
			CA	2497273	A1		05-02-2004	
			CA	2833718	A1		05-02-2004	
			EP	1572958	A2		14-09-2005	
			EP	2218495	A1		18-08-2010	
			IL	166509	A		26-11-2008	
			JP	4444917	B2		31-03-2010	
			JP	2006512204	A		13-04-2006	
			KR	20050032578	A		07-04-2005	
			KR	20070114316	A		30-11-2007	
			US	2004049230	A1		11-03-2004	
			WO	2004011600	A2		05-02-2004	

WO 2009013115	A2	29-01-2009	CN	101854917	A		06-10-2010	
			EP	2180881	A2		05-05-2010	
			JP	2010533669	A		28-10-2010	
			US	2010189777	A1		29-07-2010	
			WO	2009013115	A2		29-01-2009	

US 2014263036	A1	18-09-2014	CN	101862609	A		20-10-2010	
			CN	101918119	A		15-12-2010	
			EP	2168669	A1		31-03-2010	
			EP	2179779	A2		28-04-2010	
			JP	5278939	B2		04-09-2013	
			JP	2009131725	A		18-06-2009	
			US	2010140163	A1		10-06-2010	
			US	2010219120	A1		02-09-2010	
			US	2014263036	A1		18-09-2014	
			WO	2009008556	A1		15-01-2009	

WO 2017030502	A1	23-02-2017	KEINE					
