

# 1 Einleitung und Aufgabenstellung

In der organischen Chemie gibt es optisch aktive, auch als chiral bezeichnete Substanzen, d.h. diese Substanzen besitzen an einem Kohlenstoffatom (optisch aktive Zentren können auch an anderen Atomen, wie Stickstoff oder Phosphor gebildet werden) vier unterschiedliche Liganden. Diese Liganden können so angeordnet sein, dass sie wie Bild und Spiegelbild zu einander stehen. Die Abbildung 1 zeigt dieses Verhalten beispielhaft anhand von 2-Butanol.

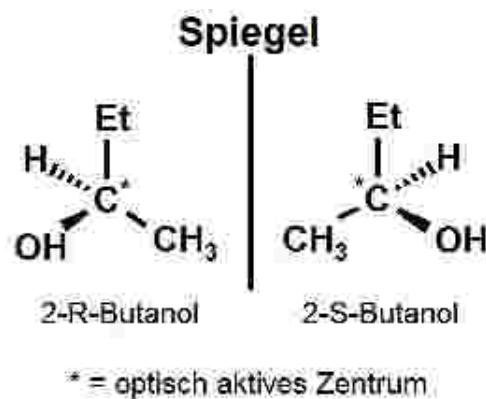


Abbildung 1: Chiralität von 2-Butanol

Das 1:1 Gemisch dieser Substanzen wird als Racemat bezeichnet, die einzelne Substanz als Enantiomere. Die physikalischen Eigenschaften sind bis auf die optische Aktivität, d.h. die Fähigkeit polarisiertes Licht zu drehen, gleich, die chemo-physiologischen Eigenschaften unterscheiden sich mitunter deutlich. Ein bedauerliches Beispiel hierfür ist das Schlafmittel Contergan<sup>®</sup>, mit dem in Abbildung 2 gezeigten Wirkstoff Thalidomid, bei dem das R-Enantiomer für die beruhigende Wirkung und das S-Enantiomer für die fruchtschädigende Wirkung verantwortlich gemacht werden.

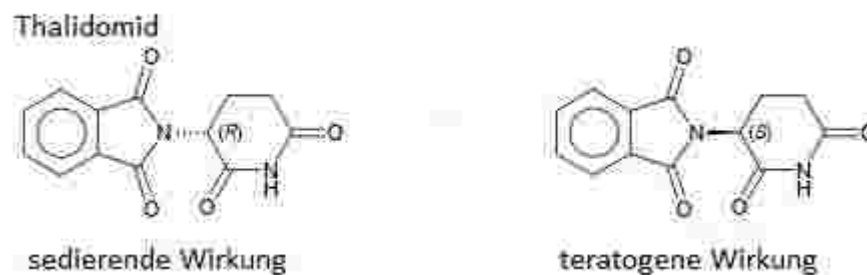


Abbildung 2: Thalidomid als Beispiel für unterschiedliche Eigenschaften von Enantiomeren

Folglich ist es in der Biochemie und Pharmazie wichtig, enantiomerenreine Substanzen herzustellen. Dies geschieht in der klassischen organischen Chemie über kostenintensive Katalysatoren und Komplexverbindungen oder durch die Herstellung eines Racemats, welches anschließend durch weitere Aufarbeitungsschritte und hinzunehmende Ausbeuteverluste in seine Enantiomere getrennt werden muss. In der Biochemie nutzt man häufig das Schlüssel- Schloss- Prinzip natürlich vorkommender Enzyme, die eine Reaktion enantioselektiv, d. h. zum reinen Enantiomer, ablaufen lassen und so Ausbeuteverluste vermeiden und Aufarbeitungskosten sparen.

Ziel dieser Arbeit ist die Kennwertermittlung von kontinuierlich betriebenen Festbettreaktoren zur enantioselektiven Reduktion von prochiralen Carbonylverbindungen zu chiralen Hydroxyverbindungen, so wie die Datenerfassung und Auswertung, der für das Festbett verwendeten Katalysatoren Chiralidon R und Chiralidon S, die Prof. Dr. Jeromin in Zusammenarbeit mit Cagla Cayoglu und Christina Sieberichs entwickelt hat.

## 2 Theoretischer Teil

### 2.1 Herstellung enantiomerenreiner Substanzen im chemischen Labor

Da Reaktionen an enantiotopen oder prochiralen Gruppen eines achiralen Ausgangsstoffes in der Regel zu racemischen Verbindungen führen, bedarf es weiterer Aufarbeitungsschritte zur Trennung der Enantiomeren oder einem Reaktionsverlauf, der direkt zum gewünschten Enantiomer führt.

#### 2.1.1 Racematspaltung

Die Auftrennung eines Racemats in seine Enantiomere nennt man Racematspaltung. Gängige Methoden sind die im Abschnitt 2.1.1.1 beschriebene Derivatisierung des racemischen Gemisches mit einem enantiomerenreinen Hilfsreagenz und die im Abschnitt 2.1.1.2 vorgestellte chirale Chromatographie.

##### 2.1.1.1 Derivatisierung

Die Derivatisierung eines Racemats mit einem enantiomerenreinen Hilfsreagenz führt zu einem Diastereomergemisch, deren unterschiedliche physikalische Eigenschaften für die Trennung genutzt werden können. Voraussetzung ist die leichte Abspaltbarkeit des Hilfsreagenzes nach der Trennung. Als Beispiel sei hier die Säure-Base-Reaktion L-(+)-Weinsäure mit racemischen Aminen genannt. Ein Enantiomer fällt als Tartrat aus, während das andere in Lösung bleibt. Nach einer Filtration wird die Base mit wässriger Lauge freigesetzt.

##### 2.1.1.2 Chirale Chromatographie

Das Wirkprinzip der chiralen Chromatographie ist gleich der konventionellen Chromatographie (s. Abb. 3 ). Als Trägermaterial werden optisch aktive Substanzen verwendet, welche verschieden starke Wechselwirkungen mit den einzelnen Enantiomeren eines Racemats eingehen. Es entstehen temporäre Diastereomere, die somit eine Trennung bewirken.

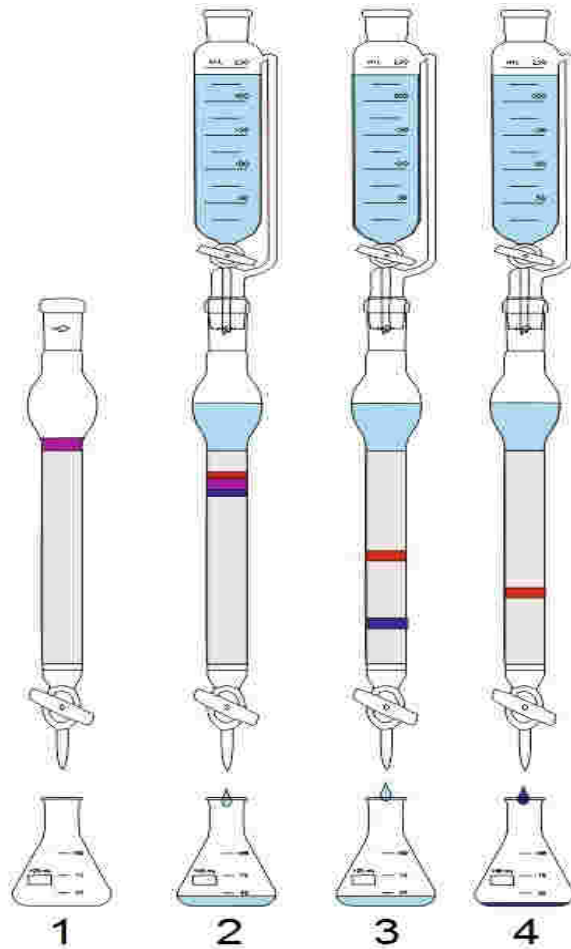


Abbildung 3: Chirale Flüssigkeitschromatographie

Die Abbildung 3 beschreibt den schematischen Ablauf einer chiralen Chromatographie von der Aufgabe des Racemats (1) über die Auftrennung des Racemats in die Enantiomere (2 und 3) bis zu dem Auffangen des schneller eluierenden Enantiomers(4).

### 2.1.2 Enantioselektive Reaktionen

Bei enantioselektiven Reaktionen kommen chirale und sterisch anspruchsvolle Katalysatoren, wie Rhodium-Phosphin-Komplexe (siehe Abb. 4) oder Agenzien, wie (S)-BINAL-H (siehe Abb. 5) zum Einsatz. Hierbei wird das Substrat durch räumliche Hinderung und Wechselwirkung mit den Liganden in eine selektive Reaktion gezwungen.

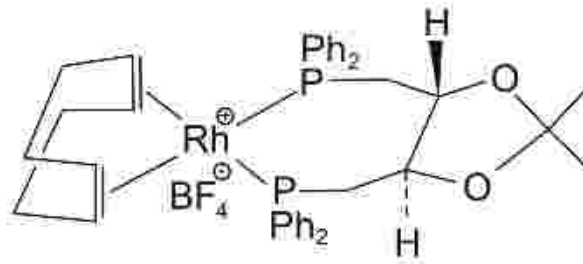


Abbildung 4: Rhodium(1,5-cyclooctadien)(-)-DIOP tertafluoroborat [13] verändert durch Stephan Maintz

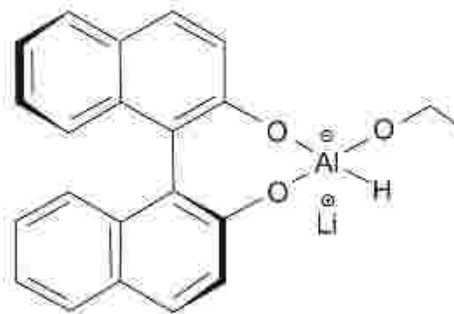


Abbildung 5:(S)-BINAL-H [13] verändert durch Stephan Maintz

## 2.2 Enzymtechnologie

Enzyme nehmen bei vielen Anwendungen einen wichtigen Platz ein. Ihre Bedeutung nimmt stark zu. Anwendung finden Enzyme zum Beispiel beim Brotbacken und Bierbrauen, bei der Textilverarbeitung und in Waschmitteln bis hin zur Umwelttechnik und Wirkstoffsynthese in der Pharmazie. Motivation für die Weiterentwicklung von Biokatalysatoren und Verfahrenstechnik ist der Bedarf an neuen enantiomerenreinen Wirkstoffen, sowie die Entwicklung umweltfreundlicherer und kostengünstigerer Verfahren von bekannten Substanzen [1].

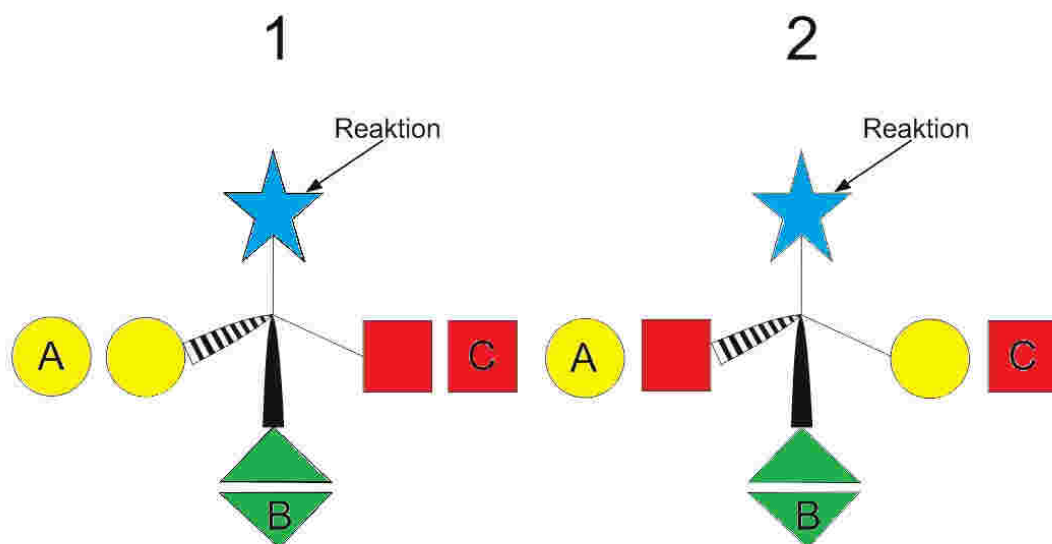
### 2.2.1 Enzyme

Enzyme sind die lebensnotwendigen Katalysatoren tierischer und pflanzlicher Organismen. Sie bewirken eine schnelle Einstellung von Gleichgewichten bei komplexen Reaktionssystemen [4]. Enzyme haben eine hohe Substratspezifität. Sie katalysieren nur eine Reaktion oder einen Reaktionstyp mit einem begrenzten Substratspektrum, wodurch nur selten Nebenreaktionen auftreten. Eine weitere

Eigenschaft ist die Stereoselektivität der Enzyme. Es sind nichtracemische chirale Makromoleküle, die in der Regel Reaktionen katalysieren, die zu nichtracemischen chiralen Produkten mit hoher Enantiomerenreinheit führen [5].

## 2.2.2 Enzymkatalysierte Reaktionen

Enzyme sind zur chiralen Erkennung befähigt, d.h. sie erkennen Substrate bezogen auf ihre Konfiguration[5]. Da ein Enzym eine Reaktion in beide Richtungen katalysiert, entstehen aus prochiralen Substraten enantiomerenreine Produkte. Damit dies möglich ist, werden Wechselwirkungen an mindestens drei Stellen im aktiven Zentrum des Enzyms vorausgesetzt. Die Abbildung 6 verdeutlicht die Dreipunktwechselwirkung zweier Enantiomere. Enantiomer 1 besitzt eine Dreipunktwechselwirkung und wird erkannt, Enantiomer 2 nicht.



*Abbildung 6: Schematische Darstellung der Dreipunktwechselwirkung [5] verändert durch Stephan Mainz*

Da es in dieser Arbeit um Katalysatoren aus immobilisierten Alkohodehydrogenasen mit dem Cofaktor Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat (NADP) geht, werden im weiteren Verlauf nur Beispiele genannt, die sich auf diese Enzyme beziehen. Die Abbildungen 7 und 8 zeigen das NADP sowie dessen Redox-Reaktion.

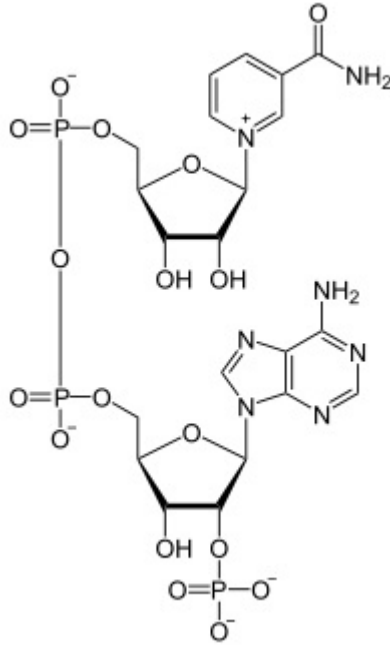


Abbildung 7:  
Nicotinsäureamid-Adenin-  
Dinukleotid-Phosphat

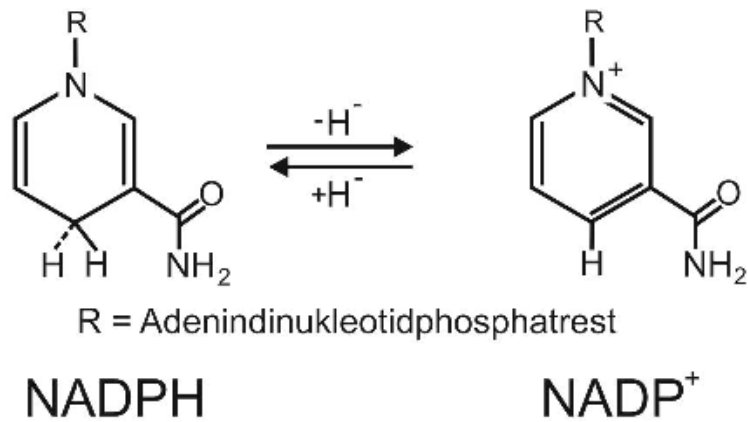


Abbildung 8: Redox- Reaktion des NADP

Bei der Reduktion von prochiralen Ketonen zu chiralen Alkoholen wird der Sauerstoff der Carbonylgruppe an einem  $\text{Zn}^{2+}$ -Ion im aktiven Zentrum der Alkoholdehydrogenase polarisiert und ermöglicht dem Cofaktor NADP eine Hydridübertragung auf den Carbonylkohlenstoff [11]. Die Abbildung 9 zeigt am Beispiel des Acetessigesters den schematischen Ablauf der Reaktion.

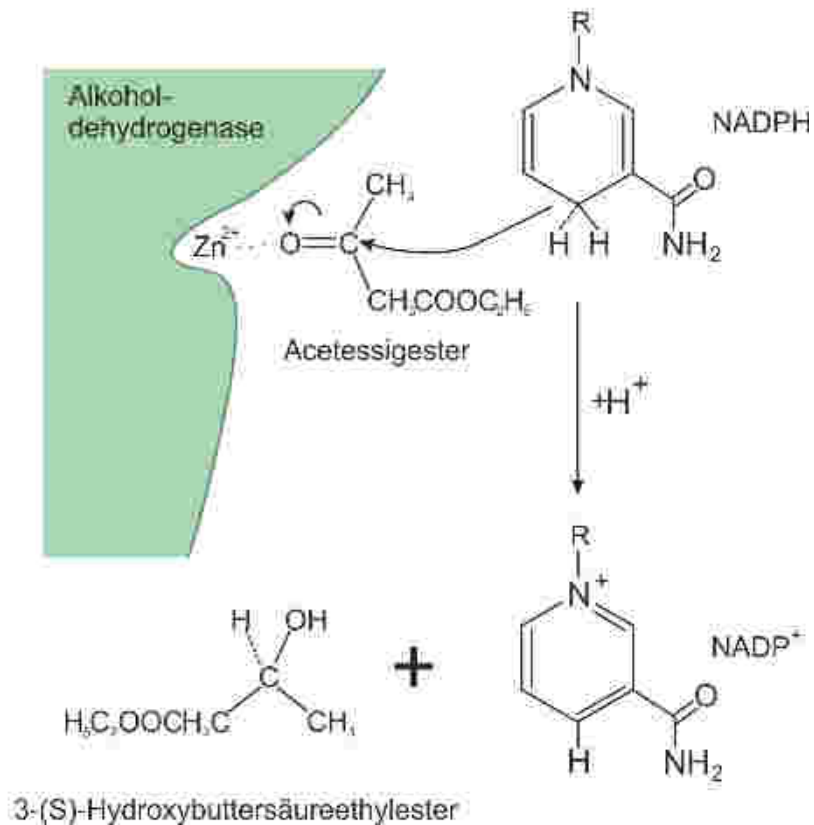


Abbildung 9: Reaktionsschema der Ketonreduktion mit Alkoholdehydrogenase

Wie das Reaktionsschema zeigt, wird bei dieser Reaktion der Cofaktor aufgebraucht und muss regeneriert werden. Dies geschieht bei den für diese Arbeit genutzten Katalysatoren über das Coupled-Substrate-Recycling Verfahren [5,12]. Dabei befinden sich Substrat und Hilfssubstrat zur gleichen Zeit im Reaktionssystem und der verbrauchte Cofaktor wird regeneriert. In Abbildung 10 wird dargestellt, wie der Cofaktor mittels Hilfssubstrat regeneriert wird.

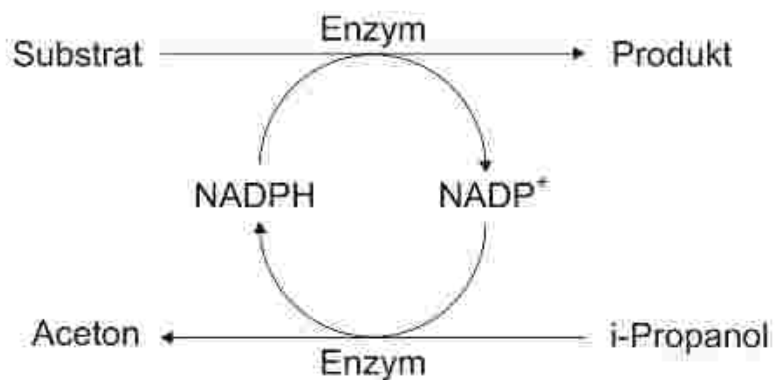


Abbildung 10: Regeneration des Cofaktors mit *i*-Propanol [5] verändert durch Stephan Maintz



## 2.3 Reaktoren im kontinuierlichen Betrieb

Bei einem Reaktor im kontinuierlichen Betrieb wird ununterbrochen Edukt zugeführt und Produkt abgeführt. Vorteile eines kontinuierlichen Prozesses sind:

- hohe Produktionsleistung,
- gleichmäßigere Qualität der erzeugten Produkte,
- hoher Automatisierungsgrad möglich, dadurch wenig Bedienungspersonal erforderlich [2].

### 2.3.1 Kontinuierlich betriebener, idealer Rührkessel (continuous stirred tank reactor, CSTR)

In einem CSTR herrscht eine vollständige Rückvermischung. Durch eine ideale Durchmischung wird erreicht, dass Produktstrom und Kesselinhalt die gleiche Zusammensetzung haben. Dem zu Folge wird der CSTR als stationär und homogen beschrieben.

Die vollständige Durchmischung bewirkt neben der konstanten Zusammensetzung auch gleichbleibende Temperaturen. Anfallende Reaktionswärme kann stetig abgeführt und für weitere Verfahrensschritte genutzt werden.

Die Automatisierbarkeit zeigt zu gleich positive als auch negative Aspekte. Im Normalbetrieb sorgt diese für konstante Qualität und niedrige Betriebskosten, allerdings können je nach Komplexität des Verfahrens hohe Investitionskosten entstehen.

Im Vergleich zum Batchbetrieb eines Rührkessels sind die Reaktionszeiten im CSTR in der Regel kürzer und damit die erreichten Umsätze niedriger. Sind hohe Umsätze erforderlich, werden größere Reaktorvolumina und damit höhere mittlere Verweilzeiten notwendig [3]. Die Abbildung 11 zeigt das Konzentrationsverhalten eines CSTR mit:

- $C^0$  = Anfangskonzentration
- $C$  = Endkonzentration
- $t$  = Zeit
- $x$  = Räumlicher Verlauf

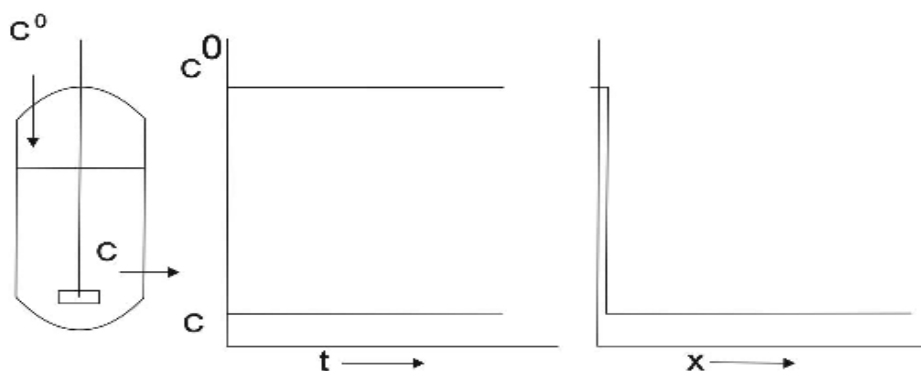


Abbildung 11: Konzentrationsverhalten eines CSTR

### 2.3.2 Ideales Strömungsrohr (plug flow reactor, PFR)

Beim PFR handelt es sich im einfachsten Fall um ein Rohr, welches von einem Fluid mit pfropfenförmigen Geschwindigkeitsprofil (s. Abb. 12) durchströmt wird.



Abbildung 12: Schematische Darstellung der Pfropfenströmung

Eine Durchmischung des Fluides findet nur radial und nicht entlang der Rohrachse statt, somit hat jedes Fluidelement die gleiche Geschwindigkeit und Verweilzeit. Bei einer Reaktion im PFR ändert sich die Konzentration des Reaktionsgemisches in Fließrichtung, während sie zum Rohrquerschnitt konstant bleibt. Der Reaktor wird als stationär und inhomogen beschrieben. Die Abbildung 13 zeigt das Konzentrationsverhalten eines PFR mit:

- $C^0$  = Anfangskonzentration
- $C$  = Endkonzentration
- $t$  = Zeit
- $x$  = Räumlicher Verlauf

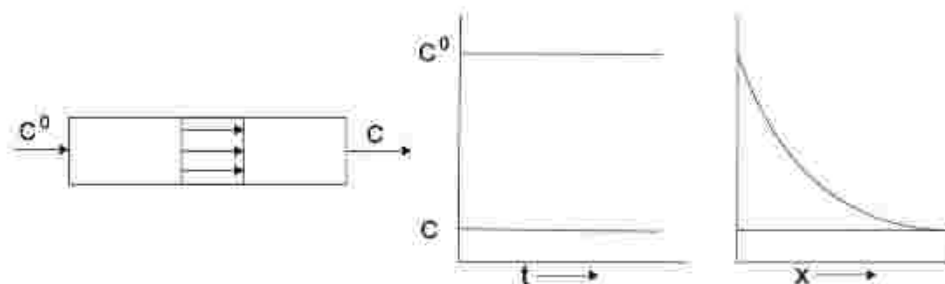


Abbildung 13: Konzentrationsverhalten eines PFR

### 2.3.3 Rührkesselkaskade

Die Rührkesselkaskade ist eine Reihe von kontinuierlich betriebenen, nacheinander geschalteten Rührkesseln und vereint die Vorteile von idealem Strömungsrohr und idealem Rührkessel, bei gleichzeitiger Reduzierung der Nachteile. Die Konzentrationsverhältnisse verändern sich von Kessel zu Kessel, sind aber im einzelnen Reaktor an jedem Ort konstant.

Die Abbildung 14 zeigt das Konzentrationsverhalten einer Rührkesselkaskade mit:

$C^0$  = Anfangskonzentration

$C$  = Endkonzentration

$t$  = Zeit

$x$  = Räumlicher Verlauf

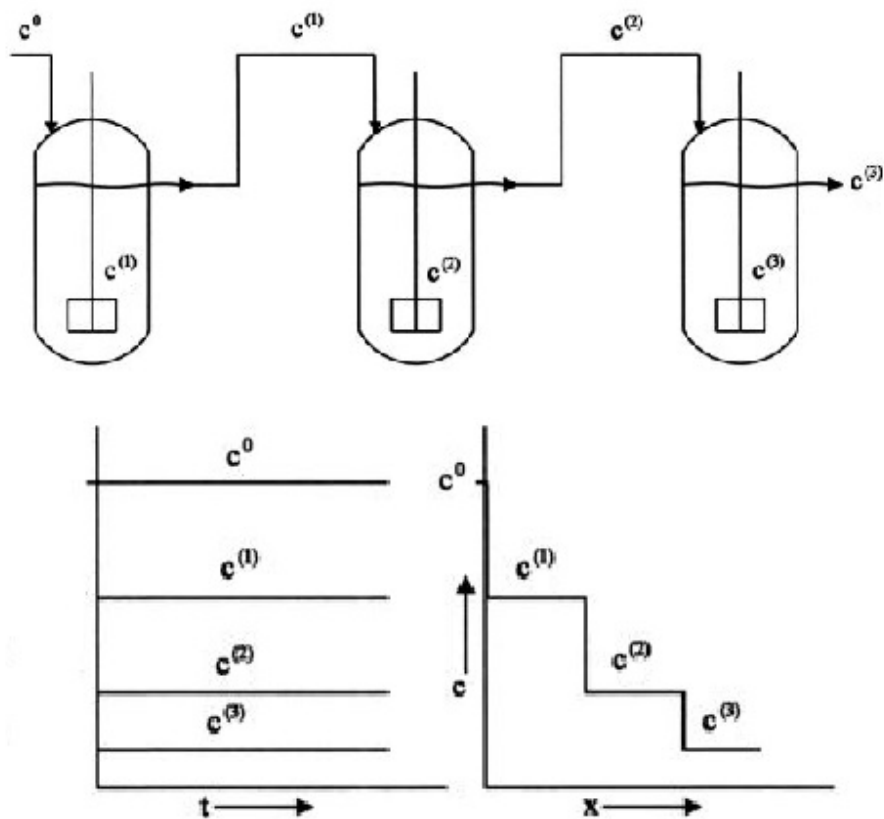


Abbildung 14: Konzentrationsverhalten einer Rührkesselkaskade [3] verändert durch Stephan Maintz

### 2.3.4 Festbettreaktor

Bei einem Festbettreaktor handelt es sich um eine Abwandlung des Strömungsrohres. Der Reaktionsraum ist mit fester Katalysatormasse oder einem Reaktanden gefüllt und wird vom Substrat durchströmt. Die Konzentration des Substrates nimmt wie beim Strömungsrohr in axialer Fließrichtung ab und bleibt zum Querschnitt des Reaktors konstant.

## 2.4 Definitionen

### Wassergehalt

Der Wassergehalt gibt den Massenanteil von Wasser in einer feuchten Substanz in Prozent an.

$$w = \frac{m(\text{Wasser})}{m(\text{Wasser}) + m(\text{Trockensubstanz})} \times 100\%$$

oder

$$w = - \left( \frac{m(\text{Trockensubstanz})}{m(\text{Feuchtsubstanz})} - 1 \right) \times 100\%$$

### Raum-Zeit-Ausbeute (RZA, space time yield)

Um Reaktoren unterschiedlicher Größe direkt vergleichen zu können, wird die Leistung eines Reaktors auf das Reaktionsvolumen bezogen [2].

$$RZA = \frac{\dot{m}_P}{V_R}$$

$\dot{m}_P$  = Produktmassenstrom in g/d

$V_R$  = Reaktionsvolumen in L

$RZA$  = Raum-Zeit-Ausbeute in g/(L\*d)

### Mittlere hydrodynamische Verweilzeit

Die Verweilzeit  $\tau$  eines Fluidelementes ist der Quotient aus Reaktionsvolumen und Volumenstrom.

$$\tau = \frac{V_R}{\dot{V}}$$

$V_R$  = Reaktionsvolumen in mL

$\dot{V}$  = Volumenstrom in mL/min

$\tau$  = Verweilzeit in min

Voraussetzung für dieses Verhalten ist eine ideale Pfropfenströmung. Liegt diese nicht vor, bewirken Durchmischungseffekte, dass die wahre Verweilzeit einzelner Elemente kürzer oder länger sein kann. Man spricht von einer Verweilzeitverteilung.

### Spezifischer Drehwert

Der spezifische Drehwert ist für chirale Substanzen eine vom Lösungsmittel abhängige physikalische Konstante.

$$[\alpha]_{\lambda}^t = \frac{[\alpha]}{l \times c}$$

$t$  = Temperatur in °C

$\lambda$  = Wellenlänge des Lichts in nm

(D = D-Linie von Na bei 589,3 nm)

$l$  = Schichtdicke der Küvette in dm

$c$  = Konzentration der Substanz in g/mL

### Enantiomerenüberschuss

Der Enantiomerenüberschuss  $ee\%$  gibt die optische Reinheit an [8].

$$ee\% = \frac{|[R] - [S]|}{[R] + [S]} \times 100$$

[R] = Peakfläche des R-Enantiomers

[S] = Peakfläche des S-Enantiomers

$ee\%$  = Enantiomerenüberschuss

### Zykluszahl (turnover number $tn$ )

Die Zykluszahl ist eine dimensionslose Zahl, die das Verhältnis zwischen Menge Produkt und Menge Enzym bzw. Cofaktor wieder gibt [8].

$$tn = \frac{n_P}{n_{cat}} \times \frac{1}{|\nu_P|}$$

$n_P$  = Stoffmenge Produkt in mol

$n_{cat}$  = Stoffmenge Enzym bzw. Cofaktor in mol

$\nu_P$  = stöchiometrischer Faktor für das Produkt

### Aktivität U und spezifische Aktivität V

Enzymmengen werden häufig über die katalytische Aktivität angegeben. Dabei ist 1 U die Enzymmenge, die 1  $\mu\text{mol}$  Substrat pro Minute umsetzt und entspricht der Anfangsgeschwindigkeit der katalysierten Reaktion [7].

$$U = \frac{\mu\text{mol}}{\text{min}}$$

Wird die Aktivität auf die Masse des Enzyms bezogen, spricht man von der spezifischen Aktivität  $V$  [8].

$$V = \frac{\delta n}{\delta t \times m_{cat}}$$

$\delta n$  = Stoffmenge umgesetztes Substrat in  $\mu\text{mol}$

$\delta t$  = Zeit in der das Substrat umgesetzt in min

$m_{cat}$  = eingesetzte Masse Enzym/Katalysator in mg

$V$  = spezifische Aktivität in U/mg

Katalysator- Verbrauch (biocatalyst consumption bc)

Der Katalysator- Verbrauch ist ein Maß für die Leistungsfähigkeit eines Katalysators. Es sind kleine Werte anzustreben [8].

$$bc = \frac{m_{cat}}{m_p}$$

$m_{cat}$  = eingesetzte Masse Katalysator in g

$m_p$  = Masse Produkt in Kg

$bc$  = Katalysator- Verbrauch in g/Kg



### 3 Praktischer Teil

#### 3.1 Herstellung der Katalysatoren

Als Füllschüttung für die Festbettreaktoren werden zwei Katalysatoren hergestellt, Chiralidon R und Chiralidon S. Bei den Katalysatoren handelt es sich um gemeinsam mit dem Cofaktor NADP immobilisierte Alkoholdehydrogenasen. Dazu werden für das Chiralidon R, eine für das Referenzsubstrat Acetessigester R-selektive ADH verwendet und für das Chiralidon S analog eine S-selektive ADH.

Enzym und Coenzym werden in einem Phosphatpuffer gelöst und anschließend mit dem Superabsorber „Favor“ der Firma Evonic immobilisiert. Das aufgequollene Immobilisat wird abgenutscht, mit Isopropanol nachgewaschen und über Phosphorpentoxid im Exsikkator unter Vakuum getrocknet. Im Kapitel 4.1.1 ist eine detaillierte Durchführung niedergeschrieben.

##### 3.1.1 Ergebnisse

Die Auswaagen der getrockneten Katalysatoren sind in nachfolgender Tabelle 1 dargestellt.

Katalysator	Auswaage
Chiralidon R	85,0010 g
Chiralidon S	143,8744 g

*Tabelle 1: Auswaagen Chiralidon*

#### 3.2 Wassergehalt der Katalysatoren

Um den Wassergehalt der Katalysatoren zu bestimmen, werden diesen nach der Trocknung im Exsikkator Proben entnommen und im Trockenschrank bis zur Massenkonstanz getrocknet. Aus der Massendifferenz lässt sich der Wassergehalt errechnen. Im Kapitel 4.1.2 ist eine genaue Durchführung beschrieben.

### 3.2.1 Ergebnisse und Diskussion

In den Tabellen 2 und 3 werden die Ergebnisse der Wassergehaltsbestimmung von Chiralidon R und Chiralidon S dargestellt.

Chiralidon R	Tara in g	Einwaage in g	Auswaage in g	Wassergehalt	Mittelwert
Probe 1	17,2416	0,1979	0,1836	7,2%	7,2%
Probe 2	18,1283	0,2356	0,2188	7,1%	

*Tabelle 2: Wassergehalt von Chiralidon R*

Chiralidon S	Tara in g	Einwaage in g	Auswaage in g	Wassergehalt	Mittelwert
Probe 1	22,0733	0,1948	0,1748	10,3%	10,4%
Probe 2	18,8172	0,1957	0,1749	10,6%	

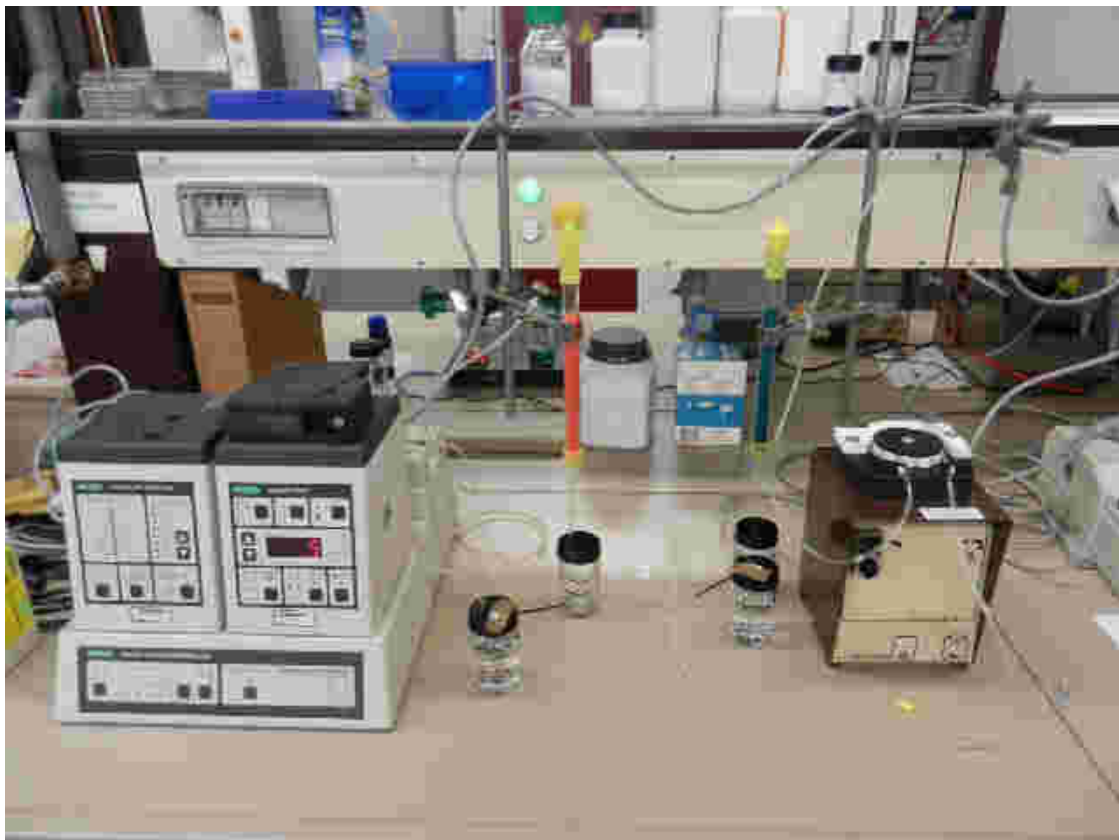
*Tabelle 3: Wassergehalt von Chiralidon S*

Die gravimetrische Messung des Wassergehaltes hat 7,2 % Wasser für das Chiralidon R und 10,4 % Wasser für das Chiralidon S ergeben, erwartet wurden aber ca. 14 % (Lit. 6). Dies kann zum einen an dem gewählten Trocknungsmittel (Phosphorpentoxid gegen Lit. Calciumchlorid) oder aber am Temperaturunterschied des Trockenschrankes (115 °C gegen Lit. 107 °C) liegen. Die Differenz im Wassergehalt zwischen Chiralidon R und Chiralidon S kann durch die zeitliche versetzte Herstellung erklärt werden. Das Chiralidon S ist einen Tag später hergestellt worden und dem zu Folge auch einen Tag später in den Exsikkator gestellt worden. Das bedeutet, dass das Trockenmittel dem Chiralidon R länger ausgesetzt war und zum Ende der Trockenzeit nicht mehr genug Wasser aufnehmen konnte um eine einheitliche Trocknung zu gewährleisten. Dies würde die Theorie über das Trocknungsmittel als Grund für den geringeren Wassergehalt gegenüber der Literatur bekräftigen.

### 3.3 Aufbau des Festbettreaktors

#### 3.3.1 Flüssigkeitschromatographiesäule als Festbettreaktor

Der verwendete Festbettreaktor ist eine mit Katalysator gefüllte Flüssigkeitschromatographiesäule. Mit einer Schlauchpumpe wird das gelöste Substrat vom Vorratsbehälter angesaugt und auf den Katalysator getropft. Das entstandene Produkt/Lösungsmittel- Gemisch wird nach durchlaufen des Reaktors in einem Auffangbehälter gesammelt und für die weitere Aufarbeitung gelagert. Im Kapitel 4.1.3 ist die Vorbereitung der Reaktoren und deren Geometrie detailliert aufgeführt. Die Abbildung 15 zeigt die für diese Arbeit verwendeten Festbettreaktoren.



*Abbildung 15: Festbettreaktoren (Säulenreaktoren)*

### 3.3.2 Silikonschlauch als Reaktor

Diese Festbettreaktoren arbeiten nach dem gleichen Prinzip wie die Flüssigkeitschromatographiesäulen. Diesem Reaktionsaufbau liegt die Theorie zu Grunde, dass ein schlanker Reaktor dem Substrat öfter die Möglichkeit bietet mit dem Katalysator zu reagieren, als ein breiter Reaktor. Der Schlauchreaktor hat ein Länge-Durchmesser-Verhältnis von 188 im Vergleich zu einem Länge-Durchmesser-Verhältnis von 13 bei dem Säulenreaktor. Dem zu Folge sind bei den Reaktionen, die im Schlauchreaktor durchgeführt werden, höhere Umsätze zu erwarten. Die Abbildung 16 zeigt die für diese Arbeit verwendeten Schlauchreaktoren.

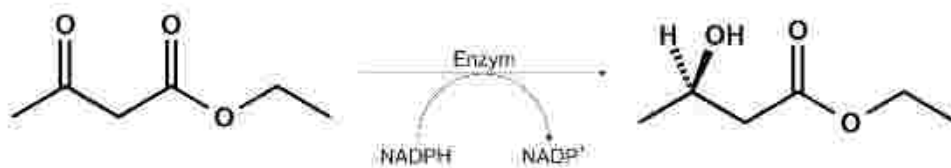


*Abbildung 16: Festbettreaktoren (Schlauchreaktoren)*

### 3.4 Umsetzungen

#### 3.4.1 Umsetzungen von Acetessigester

Der Acetessigester wird im Eluenten, einem Gemisch aus i-Propanol und Wasser (Volumenverhältnis 9:1), gelöst und mittels Schlauchpumpen von den Eduktvorlagegefäßen in die Reaktoren gepumpt. An den Reaktorauslässen wird das Eluat nach Durchlaufen der Katalysatorschüttungen kontinuierlich abgezogen, in Produktvorratsbehältern aufgefangen und bis zur Aufarbeitung gelagert. Nach Durchlauf eines Ansatzes werden die Katalysatorschüttungen mit reinem Eluenten nachgespült und ausgewaschen. Es sind mehrere Ansätze mit unterschiedlichen Eduktkonzentrationen und Eduktdosiergeschwindigkeiten durchgeführt worden. Die detaillierte Durchführung steht im Kapitel 4.1.4. Die Abbildung 17 zeigt die Reaktion von Acetessigester zu 3-Hydroxybuttersäureethylester.



*Abbildung 17: Reaktion von Acetessigester*

#### 3.4.2 Umsetzungen von Acetophenon

Das Acetophenon wird im Eluenten, einem Gemisch aus i-Propanol und Wasser (Volumenverhältnis 9:1), gelöst und mittels Schlauchpumpen von den Eduktvorlagegefäßen in die Reaktoren gepumpt. An den Reaktorauslässen wird das Eluat nach Durchlaufen der Katalysatorschüttungen kontinuierlich abgezogen, in Produktvorratsbehältern aufgefangen und bis zur Aufarbeitung gelagert. Nach Durchlauf eines Ansatzes werden die Katalysatorschüttungen mit reinem Eluenten nachgespült und ausgewaschen. Es sind mehrere Ansätze mit unterschiedlichen Eduktkonzentrationen und Eduktdosiergeschwindigkeiten durchgeführt worden. Die detaillierte Durchführung steht im Kapitel 4.1.5. Die Abbildung 18 zeigt die Reaktion von Acetophenon zu 1-Phenylethanol.

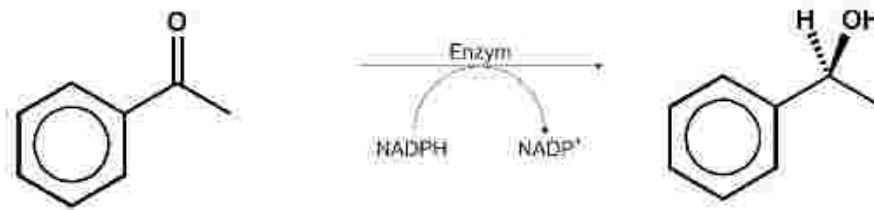


Abbildung 18: Reaktion von Acetophenon

### 3.4.3 Umsetzungen von 4-Chloracetessigester

Der 4-Chloracetessigester wird im Eluenten, einem Gemisch aus i-Propanol und Wasser (Volumenverhältnis 9:1), gelöst und mittels Schlauchpumpen von den Eduktvorlagegefäßen in die Reaktoren gepumpt. An den Reaktorauslässen wird das Eluat nach Durchlaufen der Katalysatorschüttungen kontinuierlich abgezogen, in Produktvorratsbehältern aufgefangen und bis zur Aufarbeitung gelagert. Nach Durchlauf eines Ansatzes werden die Katalysatorschüttungen mit reinem Eluenten nachgespült und ausgewaschen. Es sind mehrere Ansätze mit unterschiedlichen Eduktkonzentrationen und Edukt dosiergeschwindigkeiten durchgeführt worden. Der letzte Ansatz ist nicht im kontinuierlich betriebenen Festbettreaktor gelaufen, sondern im Schleifenbetrieb. Die detaillierte Durchführung ist im Kapitel 4.1.6 beschrieben. Die Abbildung 19 zeigt die Reaktion von 4-Chloracetessigester zu Ethyl-4-Chlor-3-hydroxybutyrat.

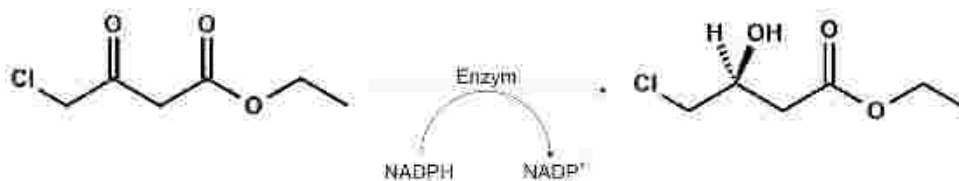


Abbildung 19: Reaktion von 4-Chloracetessigester

### 3.5 Aufarbeitung der Produkte

Die Ansätze des Acetessigesters werden einzeln im Rotationsverdampfer bei 60°C und 100 mbar eingengt und anschließend über eine Vigreux-Kolonnen vakuumdestilliert. Die Analyse der Destillate zeigt, dass praktisch keine Trennung von Keton und

Alkohol vollzogen worden ist und eine andere Methode zur Reinigung des Alkohols angewendet werden muss. Darüber hinaus zeigen die Auswaagen der Destillate, dass es zu signifikanten Ausbeuteverlusten gekommen ist. Die Ansätze der restlichen Substrate werden produktspezifisch gesammelt und als Großansatz aufgearbeitet.

Als praktikable Lösung dient die Umsetzung (s. Abb. 20) des Carbonylkohlenstoffs des Ketons mit Hydroxylamin in einer nukleophilen Substitutionsreaktion zu einem Oxim.

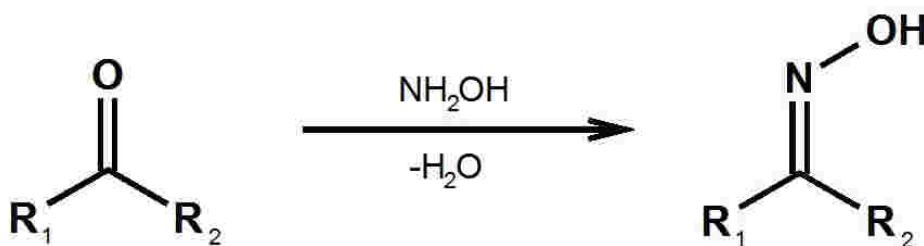


Abbildung 20: Umsetzung von Keton zu Oxim

Die Reaktionslösungen werden im Rotationsverdampfer eingeengt und mittels Gaschromatographen das Verhältnis von Produkt zu Edukt bestimmt. Um nicht umgesetztes Keton zu entfernen wird das Produkt/Edukt-Gemisch in tert.-Butylmethylether (t-BME) gelöst und mit wässriger Hydroxylaminlösung versetzt. Das Zwei-Phasen-Gemisch wird solange gerührt bis sämtliches Keton zu dem gut wasserlöslichen Oxim umgesetzt ist. Die organische Phase wird abgetrennt und die wässrige Phase mit weiterem t-BME ausgeschüttelt. Die vereinigten organischen Phasen werden am Rotationsverdampfer eingeengt und anschließend vakuumdestilliert. Im Kapitel 4.1.7 ist die genaue Durchführung beschrieben.

### 3.5.1 Ergebnisse und Diskussion

Die Auswaagen und prozentualen Ausbeuten sind in Tabelle 4 aufgelistet.

Ausbeutebestimmung				
Substrat	Katalysator	Auswaage [g]	Ausbeute [%]	Erwartete Ausbeute [%]
Acetessigester	Chiralidon R	1,7	8,1	54,4
	Chiralidon S	7,5	35,7	76,7
Acetophenon	Chiralidon R	2,8	11,0	34,9
	Chiralidon S	3,1	12,1	35,8
4-Chloracetessigester	Chiralidon R	16,5	28,9	38,0
	Chiralidon S	26,8	47,0	56,1

*Tabelle 4: Ausbeutebestimmung der Substratumsetzungen*

Die erwarteten Ausbeuten ergeben sich aus den eingesetzten Mengen und den Ergebnissen der gaschromatographischen Umsatzbestimmungen. Die hohen Differenzen zwischen erwarteter Ausbeute und tatsächlicher Ausbeute lassen sich durch die Aufarbeitung erklären. Bei der Abtrennung vom i-Propanol/Wasser-Gemisch im Rotationsverdampfer kann es wegen geringer Wasserlöslichkeit zur Wasserdampfdestillation und damit zu Ausbeuteverlusten kommen. Die Umsetzung des Ketons zum Oxim mit anschließender Extraktion, sowie die Vakuumdestillation sind weitere Möglichkeiten Produkt einzubüßen.

Bei den Ansätzen mit Acetessigester und Acetophenon summieren sich die Ausbeuteverluste aus Rotationsverdampfer und Vakuumdestillation, da alle Acetessigester- Ansätze und zwei große Acetophenon-Ansätze getrennt einrotiert und vakuumdestilliert worden sind.



## 3.6 Analytik

### 3.6.1 Bestimmung der Umsetzung

Um Kennwerte für die Reaktoren und Katalysatoren ermitteln zu können, wird von jedem Ansatz der Umsatz bestimmt. Dies erfolgt mittels Gaschromatographie. Um die Schreiberdrucke des Gaschromatographen auswerten zu können, ist eine vorherige Bestimmung der Retentionszeiten der zu erwartenden Substanzen, mit Hilfe von Reinsubstanzen unumgänglich. Zur Ermittlung der Umsätze werden Proben aus den Reaktionsgemischen der einzelnen Chargen gezogen und mit i-Propanol verdünnt. Diese Verdünnungen werden gaschromatographisch analysiert. Da zwischen Produkt und Edukt nicht mehr als zwei Gramm Differenz in der molaren Masse liegen, wird auf eine Kalibriergerade verzichtet und einzig die Peakflächen zur Umsatzbestimmung herangezogen. Nachfolgende Abbildungen (Abb. 21, 22, 23) zeigen Beispielchromatogramme zufällig ausgewählter Ansätze dieser Arbeit. Im Abschnitt 4.1.8.1 befinden sich die detaillierten Durchführungen.

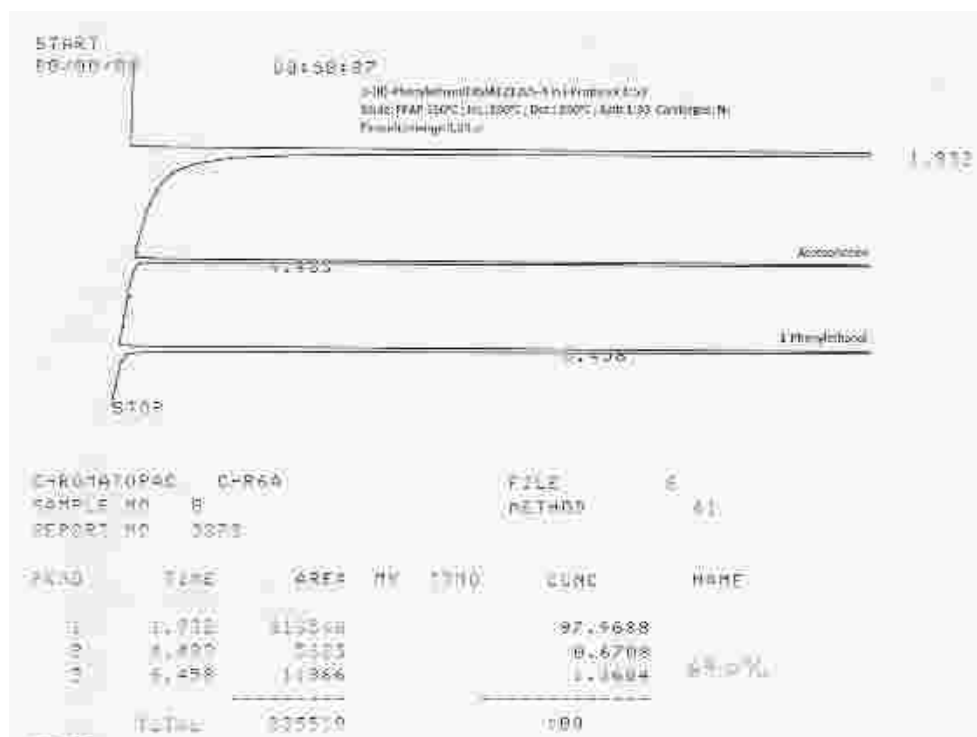


Abbildung 21: Beispielchromatogramm von 1-(R)-Phenylethanol

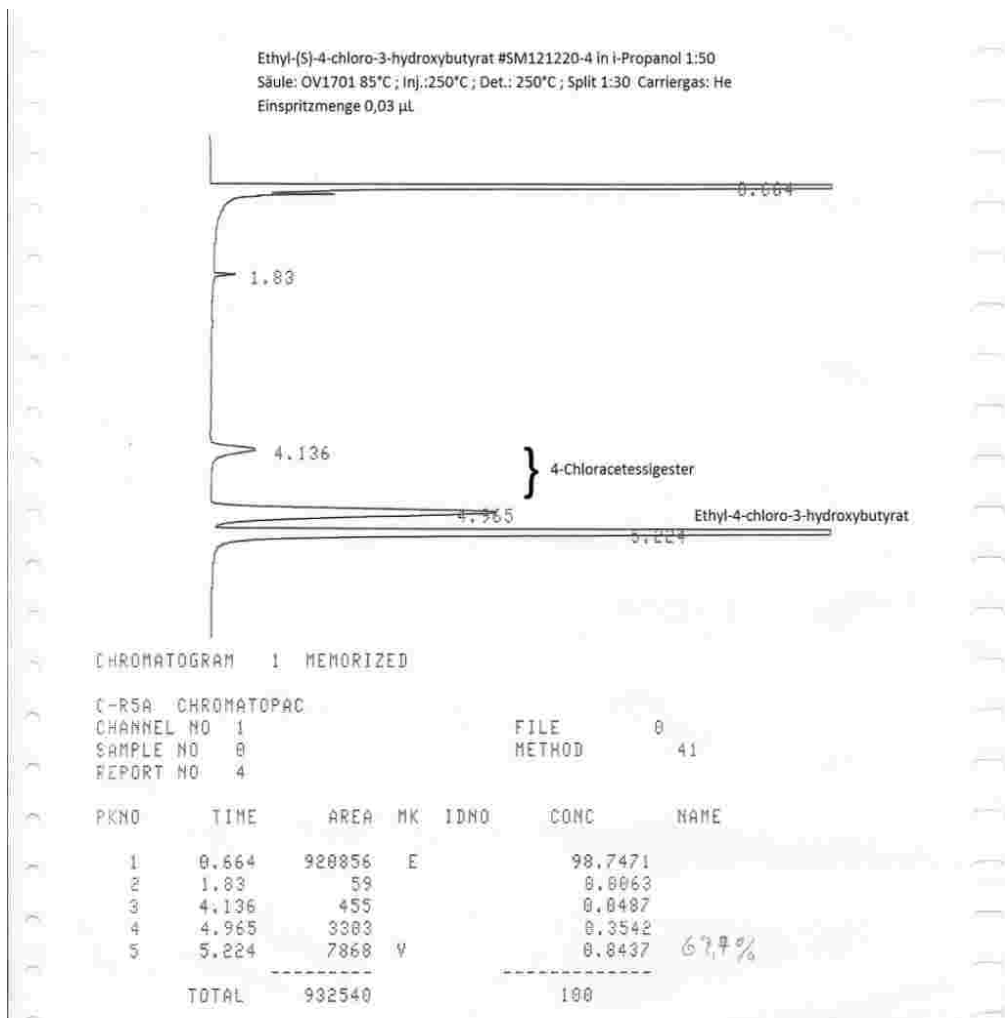


Abbildung 22: Beispielchromatogramm von Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

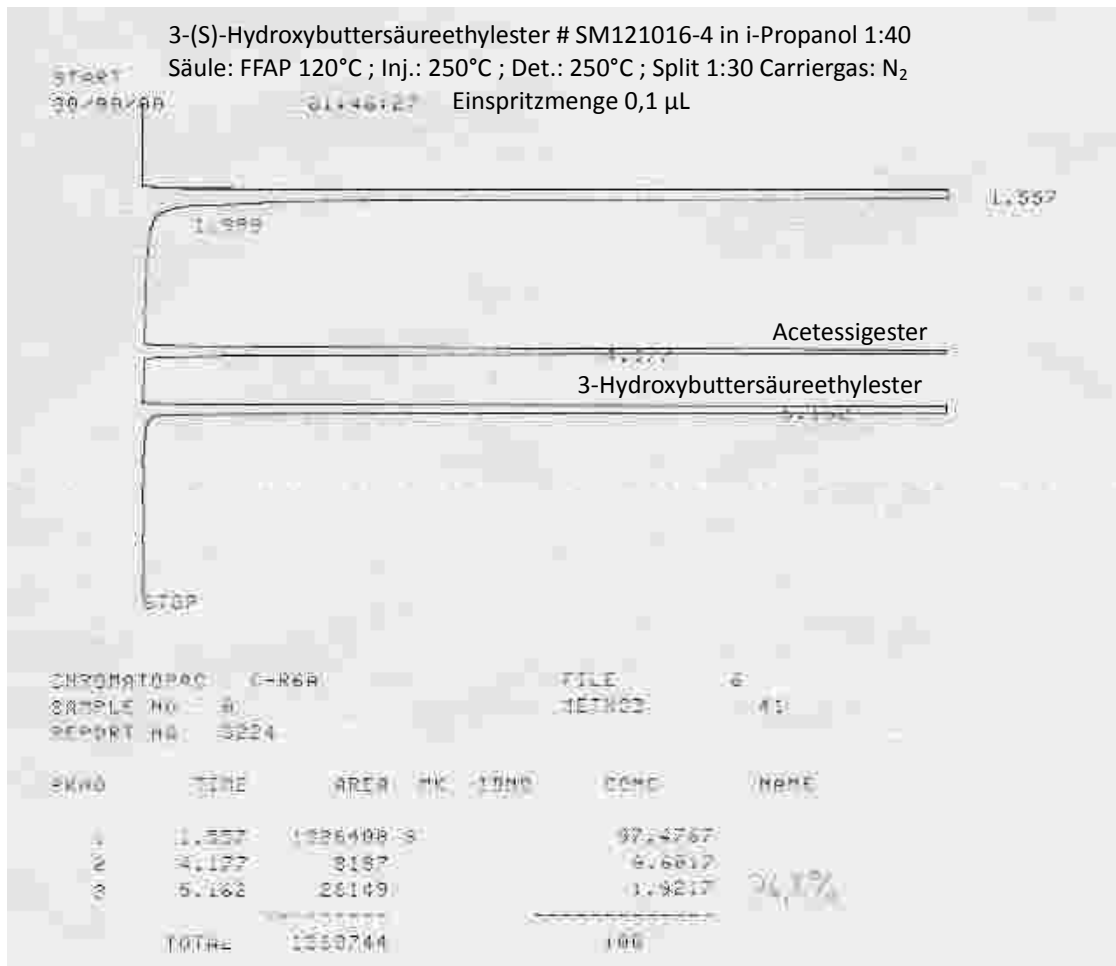


Abbildung 23: Beispielchromatogramm von  
 3-(S)-Hydroxybuttersäureethylester

### 3.6.1.1 Ergebnisse und Diskussion

#### Auswertung der Acetessigester- Ansätze

Diese Ansätze dienen der Findung von Erfahrungswerten und zur Optimierung des Umgangs mit den Katalysatoren und den Reaktionsanlagen. Die Tabellen 5 und 6 listen die ermittelten Ergebnisse auf.

Acetessigester mit Chiralidon R zu 3-(R)-Hydroxybuttersäureethylester				
Charge	Umsatz in Prozent	Hydro-dynamische Verweilzeit [min]	Raum-Zeit-Ausbeute [g/(L*d)]	Kat.-masse-Zeit-Ausbeute [g/Kg*d]
SM121011-1	6,4	49,6	150,0	288,6
SM121011-2	92,2	565,4	94,8	182,4
SM121015-3	51,1	188,5	157,6	303,2
SM121016-4	40,4	101,0	232,5	447,5
SM121017-5	49,6	166,3	173,3	333,5
SM121023-1	78,9	207,9	176,4	326,6
SM121105-2	36,1	207,9	95,9	177,5

*Tabelle 5: Ergebnisse 3-(R)-Hydroxybuttersäureethylester*

Acetessigester mit Chiralidon S zu 3-(S)-Hydroxybuttersäureethylester				
Charge	Umsatz in Prozent	Hydro-dynamische Verweilzeit [min]	Raum-Zeit-Ausbeute [g/(L*d)]	Kat.-masse-Zeit-Ausbeute [g/Kg*d]
SM121011-1	43,8	29,1	1750,3	4446,2
SM121011-2	92,3	111,7	480,3	1220,0
SM121015-3	74,5	164,2	263,6	669,6
SM121016-4	76,1	146,9	300,9	764,4
SM121017-5	78,3	146,9	309,6	786,5
SM121023-1	98,0	186,0	244,9	485,9
SM121105-2	81,6	186,0	275,3	546,1

*Tabelle 6: Ergebnisse 3-(S)-Hydroxybuttersäureethylester*

Ein Vergleich der Werte zeigt, dass sowohl bei den Ansätzen mit Chiralidon R, als auch bei den Ansätzen mit Chiralidon S, die Umsätze steigen, wenn die mittleren hydrodynamischen Verweilzeiten steigen. Des Weiteren ist zu sehen, dass bei geringen

Verweilzeiten und geringen Umsätzen, hohe Raum-Zeit-Ausbeuten möglich sind.

Werden die Umsätze der beiden Katalysatoren miteinander verglichen, stellt man fest, dass das Chiralidon S der potentere Katalysator ist.

#### Auswertung der Acetophenon- Ansätze

Diese Ansätze sollen die Abhängigkeit der Umsätze von Verweilzeit und Substratkonzentration wiedergeben. Des Weiteren soll mit dieser Versuchsreihe dargestellt werden, welchen Einfluss die Reaktorgeometrie auf die Umsätze hat. Die Tabellen 7 und 8 listen die Ergebnisse auf. Es ist zu beachten, dass die grün hinterlegten Flächen die Ansätze im Säulenreaktor und die blau hinterlegten Flächen die Ansätze im Schlauchreaktor darstellen.

Acetophenon mit Chiralidon R zu 1-(R)-Phenylethanol				
Charge	Umsatz in Prozent	Hydro-dynamische Verweilzeit [min]	Raum-Zeit-Ausbeute [g/(L*d)]	Kat.-masse-Zeit-Ausbeute [g/Kg*d]
SM121107-3	11,8	294,5	27,0	49,9
SM121112-4	38,0	1767,0	14,6	27,0
SM121119-5	45,9	1767,0	8,9	16,5
SM121128-1	79,2	1597,5	34,3	54,7
SM121203-2	8,5	266,3	21,9	35,0
SM121204-3	19,4	532,5	25,2	40,2
SM121205-4	66,9	1597,5	28,9	46,2

*Tabelle 7: Ergebnisse von 1-(R)-Phenylethanol*

Acetophenon mit Chiralidon S zu 1-(S)-Phenylethanol				
Charge	Umsatz in Prozent	Hydro-dynamische Verweilzeit [min]	Raum-Zeit-Ausbeute [g/(L*d)]	Kat.-masse-Zeit-Ausbeute [g/Kg*d]
SM121107-3	10,7	271,8	27,1	53,7
SM121112-4	37,5	1767,0	15,0	29,8
SM121119-5	38,9	1767,0	7,4	14,7
SM121128-1	96,7	1590,5	42,0	66,8
SM121203-2	23,1	244,7	65,1	103,6
SM121204-3	17,4	454,4	26,5	42,1
SM121205-4	51,5	1590,5	22,4	35,6

*Tabelle 8: Ergebnisse von 1(S)-Phenylethanol*

Die nachfolgenden Diagramme 1 und 2 veranschaulichen den Einfluss der Substratkonzentration auf den Umsatz und die Raum-Zeit-Ausbeute.

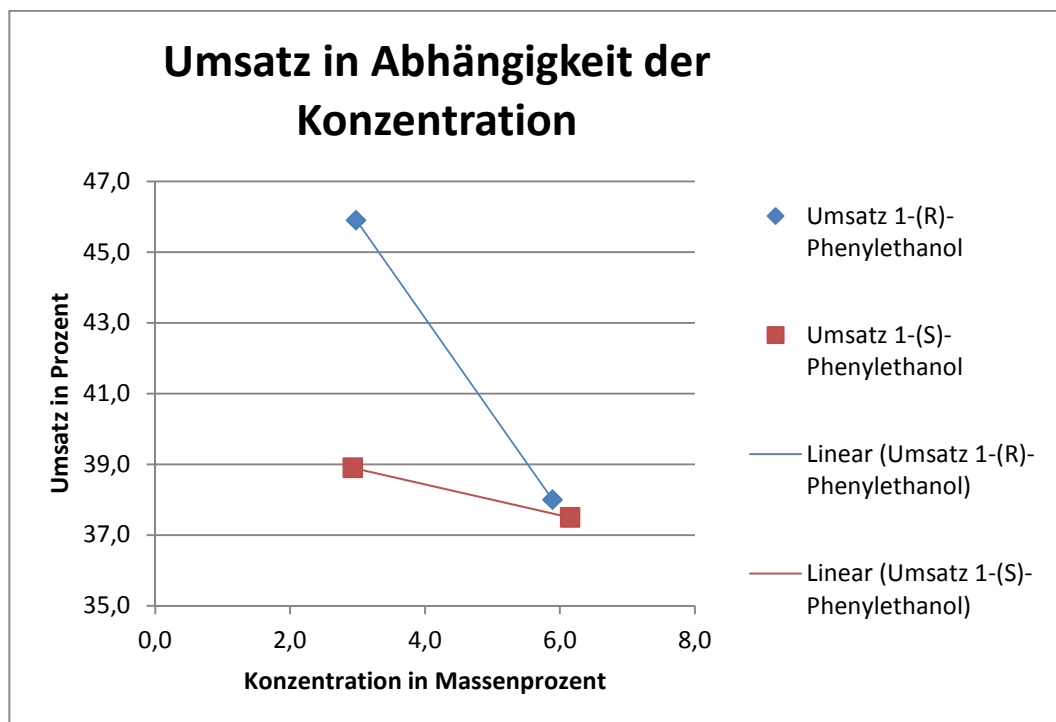


Diagramm 1: Umsatz/Konzentration 1-Phenylethanol

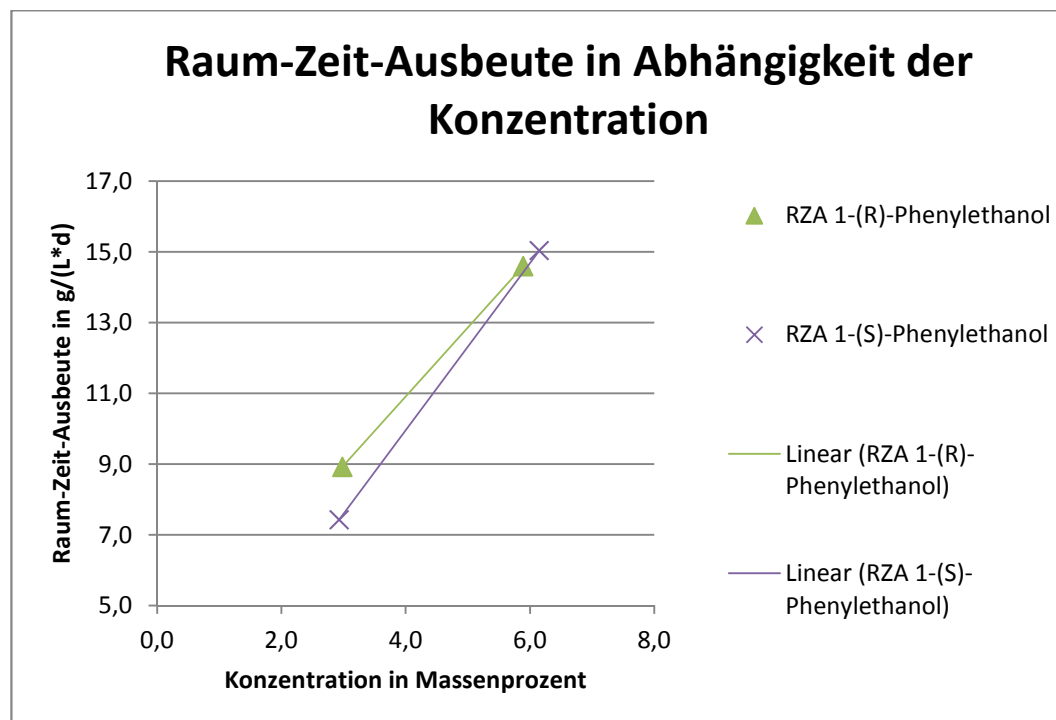


Diagramm 2: Raum-Zeit-Ausbeute/Konzentration 1-Phenylethanol

Anhand der Chargen SM121112-4 und SM121119-5 wird gezeigt, dass die Umsätze mit steigender Substratkonzentration sinken, aber die Raum-Zeit-Ausbeuten im Falle des 1-(R)-Phenylethanols um 65 % und beim 1-(S)-Phenylethanols um 103 % steigen.

In den Diagrammen 3 und 4 werden die Umsatz- und Raum-Zeit-Ausbeuteabhängigkeit von der Verweilzeit wiedergegeben.

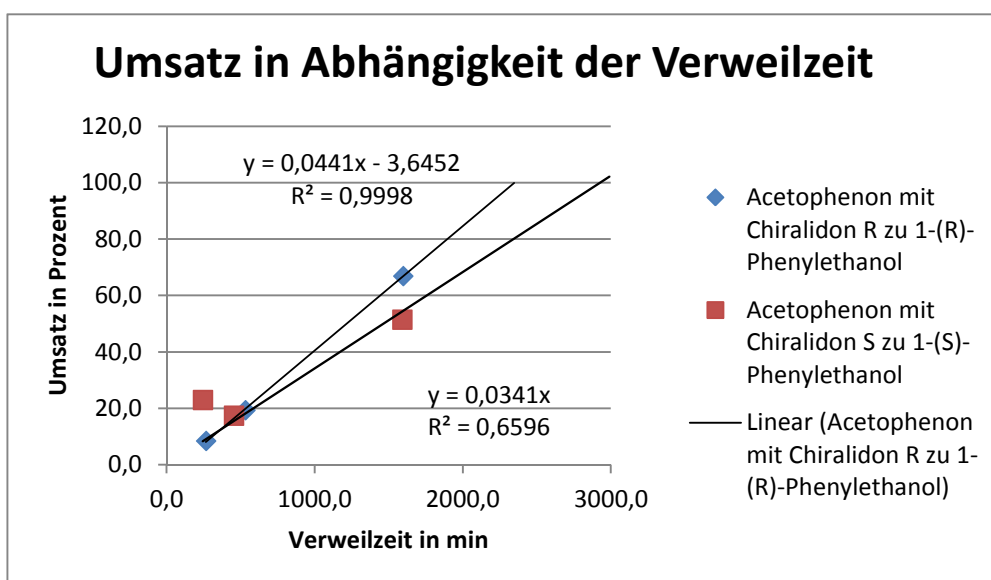


Diagramm 3: Umsatz/Verweilzeit 1-Phenylethanol

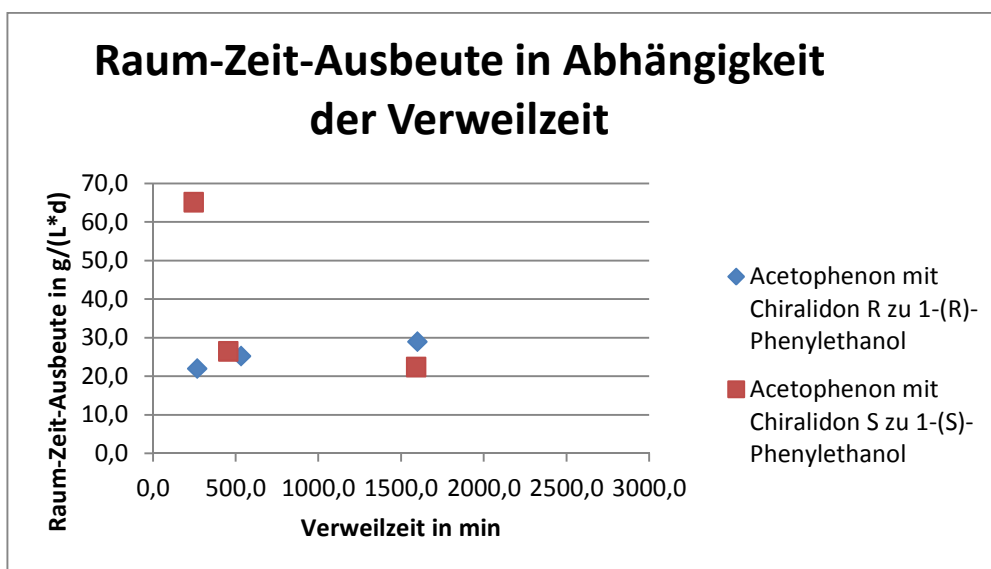


Diagramm 4: Raum-Zeit-Ausbeute/Verweilzeit 1-Phenylethanol

Das Auftragen der Umsätze gegen die Verweilzeit zeigt eine klare Tendenz. Längere Verweilzeiten führen zu höheren Umsätzen. Am Beispiel des 1-(R)-Phenylethanols hat das Tabellenkalkulationsprogramm Excel<sup>®</sup> eine lineare Trendlinie interpoliert, die einen Umsatz von 100 % bei einer Verweilzeit von 2350 Minuten voraussagt.

Die Raum-Zeit-Ausbeuten zeigen ein gegenläufiges Verhalten und streben ein Gleichgewicht zwischen 20 und 30 g/(L\*d) an. Dies könnte durch die unterschiedlichen Reaktionsgeschwindigkeiten von Substratumsatz und Regeneration des Cofaktors NADP erklärt werden.

Das folgende Diagramm 5 gibt die Abhängigkeit von Umsatz zur Reaktorgeometrie wieder.

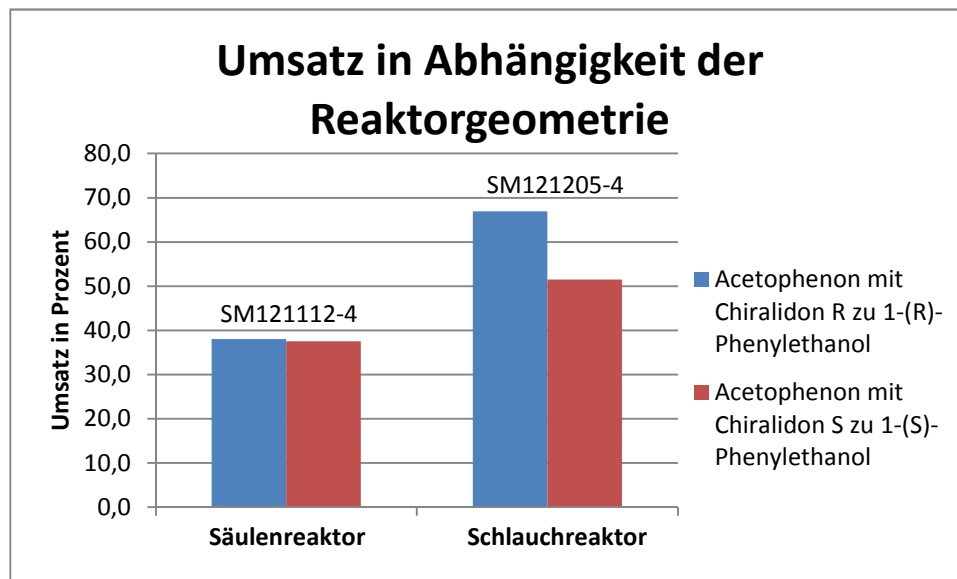


Diagramm 5: Reaktorgeometrie

Wie erwartet, zeigt der Vergleich der Reaktorgeometrien, dass ein höheres Längen-Durchmesser-Verhältnis bei gleichbleibenden Verweilzeiten und Katalysatormengen, zu höheren Umsätzen führt.

#### Auswertung der 4-Chloracetessigester- Ansätze

Mittels der 4-Chloracetessigester- Ansätze sollen, neben dem Verhalten der Umsätze bei Konzentrations- und Verweilzeitänderung, auch Kennwerte wie Zykluszahl, Katalysatorverbrauch und die Aktivität der Katalysatoren ermittelt werden.



Die Tabellen 9 und 10 zeigen die Ergebnisse zur Bestimmung der Zykluszahl und Katalysatorverbrauch.

4-Chloracetessigester mit Chiralidon R zu Ethyl-S-4-chloro-3-hydroxybutyrat				
Charge	Umsatz in Prozent	Hydro-dynamische Verweilzeit [min]	Raum-Zeit-Ausbeute [g/(L*d)]	Kat.-masse-Zeit-Ausbeute [g/Kg*d]
SM121217-1	57,3	459,0	87,1	144,3
SM121218-2	72,9	459,0	110,8	183,6
SM121219-3	74,1	459,0	112,6	186,6
SM121220-4	67,3	459,0	102,3	169,5
SM130102-5	50,5	459,0	76,7	127,2
SM130107-6	32,7	459,0	49,7	82,3
SM130108-7	36,9	459,0	56,1	92,9

Tabelle 9: Bestimmung der Zykluszahl; Ethyl-(R)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

4-Chloracetessigester mit Chiralidon S zu Ethyl-R-4-chloro-3-hydroxybutyrat				
Charge	Umsatz in Prozent	Hydro-dynamische Verweilzeit [min]	Raum-Zeit-Ausbeute [g/(L*d)]	Kat.-masse-Zeit-Ausbeute [g/Kg*d]
SM121217-1	85,4	504,9	118,0	193,5
SM121218-2	95,8	504,9	132,3	217,0
SM121219-3	99,2	504,9	137,0	224,7
SM121220-4	99,2	504,9	137,0	224,7
SM130102-5	74,2	504,9	102,5	168,1
SM130107-6	50,5	504,9	69,8	114,4
SM130108-7	48,4	504,9	66,9	109,7

Tabelle 10: Bestimmung der Zykluszahl; Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Trägt man diese Ergebnisse graphisch auf, erhält man folgendes Diagramm 6.

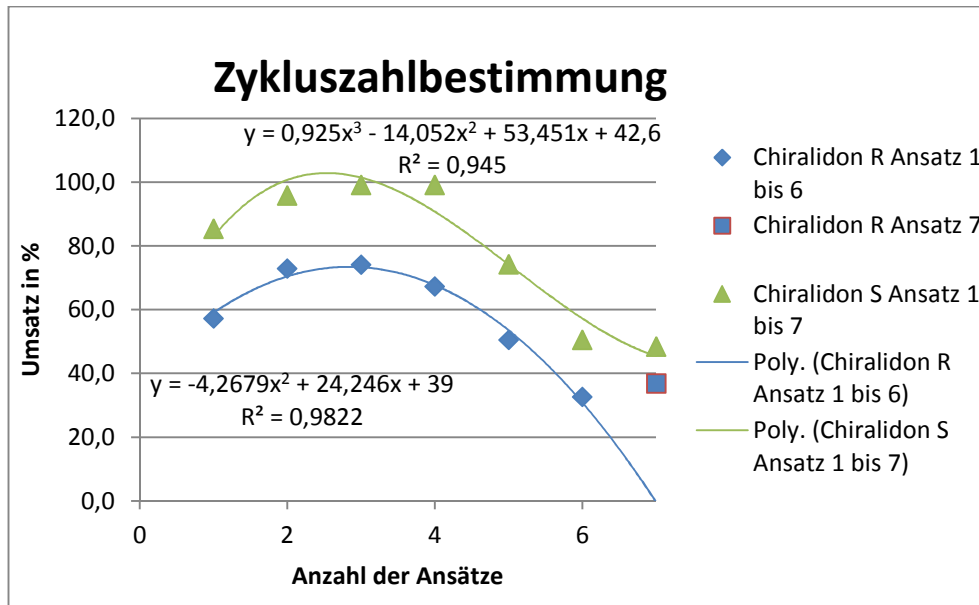


Diagramm 6: Zykluszahlbestimmung

Am Kurvenverlauf ist zu erkennen, dass die Umsätze erst steigen und dann abfallen. Der Anstieg der Umsätze kann mittels zweier Theorien erklärt werden.

1. Theorie: Die Lösungsmittelmenge zum Nachwaschen der Katalysatoren ist zu gering gewählt und Substratreste der Vorcharge verfälschen das Ergebnis.
2. Theorie: Die Katalysatoren unterliegen Anfahreffekten.

Nach dem Abfallen der Umsätze bis Ansatz Nummer sechs, scheint sich mit dem siebten Ansatz ein Gleichgewicht einzustellen. Anhand der interpolierten Trendlinie Chiralidon R Ansatz eins bis sechs, sollte man annehmen, dass der Umsatz des siebten Ansatzes bei 0 % liegen würde. Die Analytik dieses Ansatzes zeigt hingegen einen geringen Anstieg. Die Einstellung des Gleichgewichtes ist mit der Regeneration des Cofaktors mit *i*-Propanol zu erklären. Wenn die Regeneration langsamer verläuft als die Reduktion des Substrates, wird die Regeneration zum geschwindigkeitsbestimmenden Schritt und begrenzt somit den Umsatz.

Aus organisatorischen Gründen wird die Zykluszahl nur für diese sieben Ansätze bestimmt und in folgender Tabelle 11 dargestellt.

Katalysator	Masse Produkt [g]	Stoffmenge Produkt [mmol]	Stoffmenge Cofaktor [mmol]	Zykluszahl tn
Chiralidon R	11,75	70,53	0,12	580
Chiralidon S	16,58	99,52	0,07	1374

*Tabelle 11: Ergebnisse Zykluszahl*

In der Literatur (Lit. 8) ist die Zykluszahl tn für Dehydrogenasen mit  $10^3$  angegeben. Das Chiralidon S hat diesen Wert nach dem siebten Ansatz erreicht und sogar übertroffen. Das Chiralidon R hat diesen Wert nicht erreichen können. Dies liegt an der geringeren Aktivität des Katalysators. Wie aber oben schon beschrieben, hat sich ein Gleichgewicht eingestellt und lässt vermuten, dass mit weiteren Ansätzen die Zykluszahlen steigen.

Die Tabelle 12 gibt die Ergebnisse für den Katalysator- Verbrauch wieder.

Katalysator	Masse Produkt [g]	Masse Katalysator [g]	Katalysator- Verbrauch bc [g/Kg]
Chiralidon R	11,75	21,3221	1814,65
Chiralidon S	16,58	21,5462	1299,53

*Tabelle 12: Ergebnisse Katalysator-Verbrauch*

Die Tabellen 13 und 14 zeigen die Ergebnisse zum Umsatzverhalten bei Konzentrations- und Verweilzeitänderung. Die grün hinterlegten Ergebnisse geben die Verweilzeitänderung an, die blau hinterlegten die Konzentrationsänderung von 6 % auf 12 %. Um eine Verfälschung der Ergebnisse durch die bereits erwähnten Anfahreffekte zu vermeiden, werden Vergleich die Chargen SM121218-2 und SM121219-3 aus der Zykluszahlbestimmung genutzt.

4-Chloracetessigester mit Chiralidon R zu Ethyl-S-4-chloro-3-hydroxybutyrat				
Charge	Umsatz in Prozent	Hydro-dynamische Verweilzeit [min]	Raum-Zeit-Ausbeute [g/(L*d)]	Kat.-masse-Zeit-Ausbeute [g/Kg*d]
SM130110-1	76,0	1767,0	30,0	46,0
SM130115-2	42,1	271,8	108,0	165,7
SM121218-2	72,9	459,0	110,8	183,6
SM121219-3	74,1	459,0	112,6	186,6
SM130116-3	43,6	459,0	132,5	203,2

Tabelle 13: Umsatz/Zeit und Konzentration; Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

4-Chloracetessigester mit Chiralidon S zu Ethyl-R-4-chloro-3-hydroxybutyrat				
Charge	Umsatz in Prozent	Hydro-dynamische Verweilzeit [min]	Raum-Zeit-Ausbeute [g/(L*d)]	Kat.-masse-Zeit-Ausbeute [g/Kg*d]
SM130110-1	85,0	1767,0	33,5	52,5
SM130115-2	82,2	294,5	194,6	304,9
SM121218-2	95,8	504,9	132,3	217,0
SM121219-3	99,2	504,9	137,0	224,7
SM130116-3	99,0	504,9	273,5	428,4

Tabelle 14: Umsatz/Zeit und Konzentration; Ethyl-(R)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Die Diagramme 7 und 8 sollen das Verhalten von Umsatz und Raum-Zeit-Ausbeute bei Verweilzeitänderung darstellen.

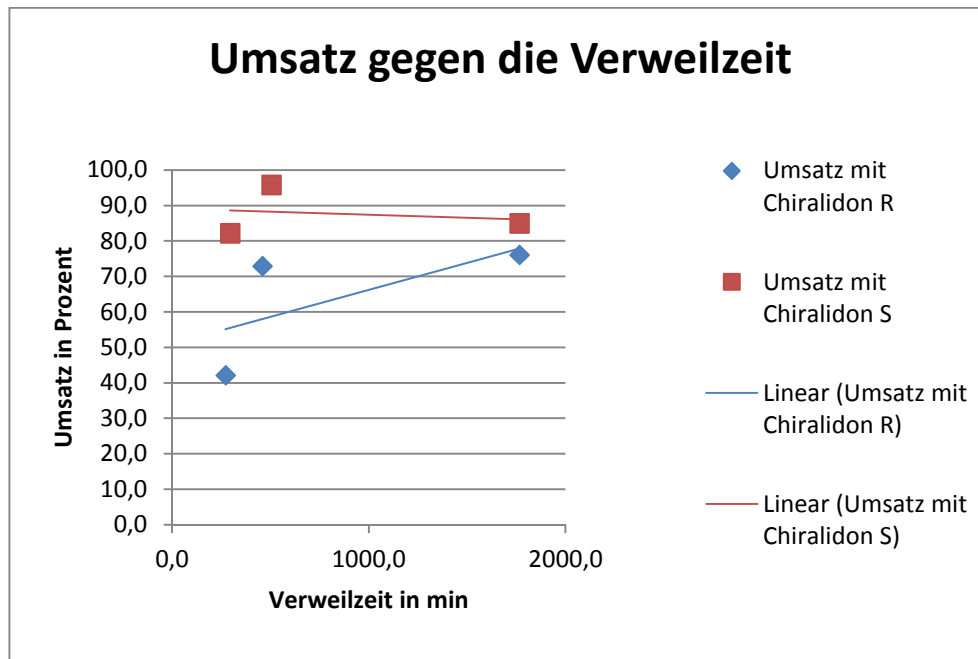


Diagramm 7: Umsatz/Zeit; Ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrat

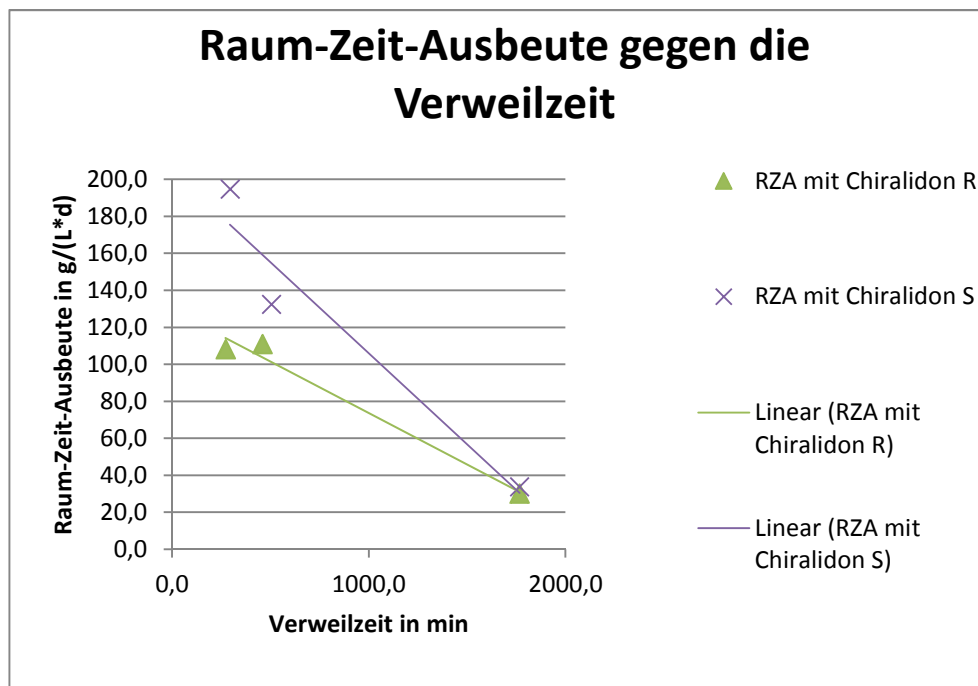


Diagramm 8: Raum-Zeit-Ausbeute/Zeit; Ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Begründet durch die bereits erwähnten Anfahrereffekte und fehlender statistischer Werte, können nur Tendenzen wiedergegeben werden. Das Diagramm zeigt, dass die Umsätze mit der Verweilzeit steigen, die Raum-Zeit-Ausbeuten dagegen sinken.

Das Verhalten von Umsatz und Raum-Zeit-Ausbeute gegen Konzentrationsänderung

werden in den Diagrammen 9 und 10 dargestellt.

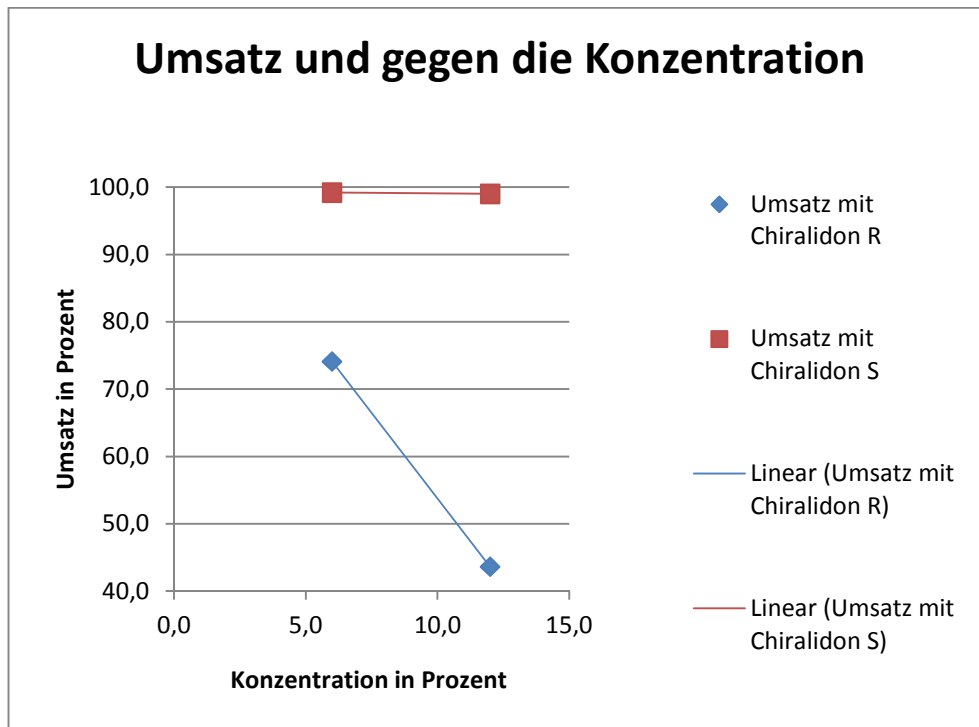


Diagramm 9: Umsatz/Konzentration; Ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrat

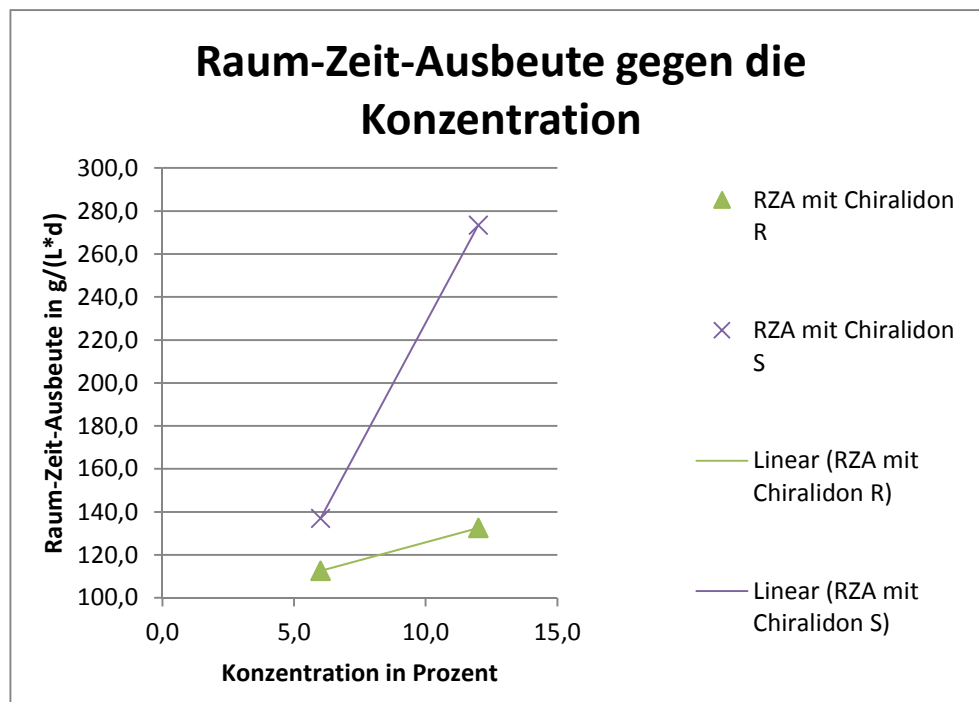


Diagramm 10: Raum-Zeit-Ausbeute/Konzentration; Ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Bei diesen Ansätzen lassen sich durch die bereits erwähnten Anfahreffekte und fehlender statistischer Werte nur Tendenzen wiedergegeben. Das Diagramm zeigt, dass

die Umsätze mit steigender Konzentration sinken, die Raum-Zeit-Ausbeuten dagegen steigen.

Der Schleifen- Ansatz ist gesondert zu betrachten, da dieser nicht im kontinuierlichen Betrieb durchgeführt wurde. Mittels diesem Ansatz wird die Aktivität bestimmt, sowie die Raum-Zeit-Ausbeute im Gleichgewicht. Die Tabellen 15 und 16 listen die Ergebnisse auf.

4-Chloracetessigester mit Chiralidon R zu Ethyl-S-4-chloro-3-hydroxybutyrat				
Charge	Zeit in min	Umsatz in Prozent	Raum-Zeit-Ausbeute [g/(L*d)]	Kat.-masse-Zeit-Ausbeute [g/Kg*d]
SM130121-5	60	0,5	9,0	63,8
	120	1,6	14,4	102,1
	180	2,8	16,8	119,2
	240	3,8	17,1	121,3
	300	5,0	18,0	127,7
	360	5,8	17,4	123,4
	420	7,3	18,7	133,1
	1350	23,4	18,7	132,8
	1770	31,1	18,9	134,6

*Tabelle 15: Schleifenansatz; Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat*

4-Chloracetessigester mit Chiralidon S zu Ethyl-R-4-chloro-3-hydroxybutyrat				
Charge	Zeit in min	Umsatz in Prozent	Raum-Zeit-Ausbeute [g/(L*d)]	Kat.-masse-Zeit-Ausbeute [g/Kg*d]
SM130121-5	60	2,3	41,3	293,6
	120	3,7	33,2	236,2
	180	5,1	30,5	217,0
	240	6,5	29,2	207,5
	300	8,3	29,8	211,9
	360	9,9	29,6	210,6
	420	11,0	28,2	200,6
	1350	29,4	23,5	166,8
	1770	37,1	22,6	160,6

*Tabelle 16: Schleifenansatz; Ethyl-(R)-4-chloro-3-hydroxybutyrat*

Das Diagramm 11 stellt den zeitlichen Verlauf des Umsatzes dar.

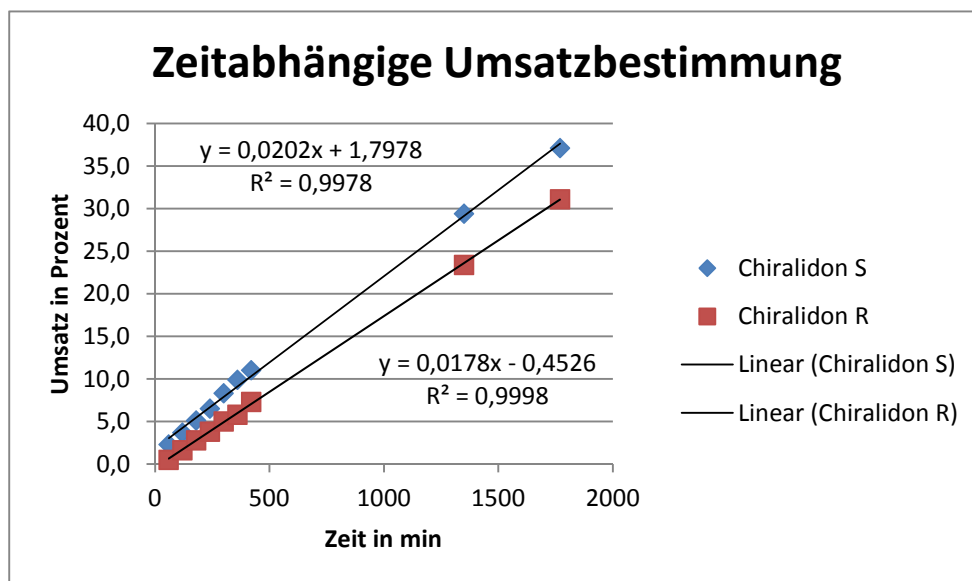


Diagramm 11: Umsatz/Zeit; Schleifenansatz

Der lineare Zusammenhang von Umsatz und Reaktionszeit wird deutlich dargestellt und kann folglich für die Aktivitätsbestimmung genutzt werden. Die nachfolgende Tabelle 17 stellt die spezifischen Aktivitäten der Katalysatoren für 4-Chloracetessigester dar.

Aktivitätsbestimmung		
Katalysator	Spezifische Aktivität [U/mg]	Erwartete spez. Aktivität [U/mg]
Chiralidon R	0,00068	0,0047
Chiralidon S	0,00079	

Tabelle 17: Aktivitätsbestimmung

Die gemessenen Aktivitäten sind um das Sechs- bis Siebenfache kleiner, als die erwarteten Werte (Lit. 9). Dies liegt daran, dass weder das gleiche Substrat noch die gleichen Reaktionsbedingungen herrschten. Des Weiteren ist für diesen Ansatz ein bereits verwendeter Katalysator genutzt worden und der Reaktionsaufbau lässt keine Probenentnahme während der Anfangszeit der Reaktion zu.



Die Diagramme 12 und 13 zeigen den zeitlichen Verlauf der Raum-Zeit-Ausbeute.

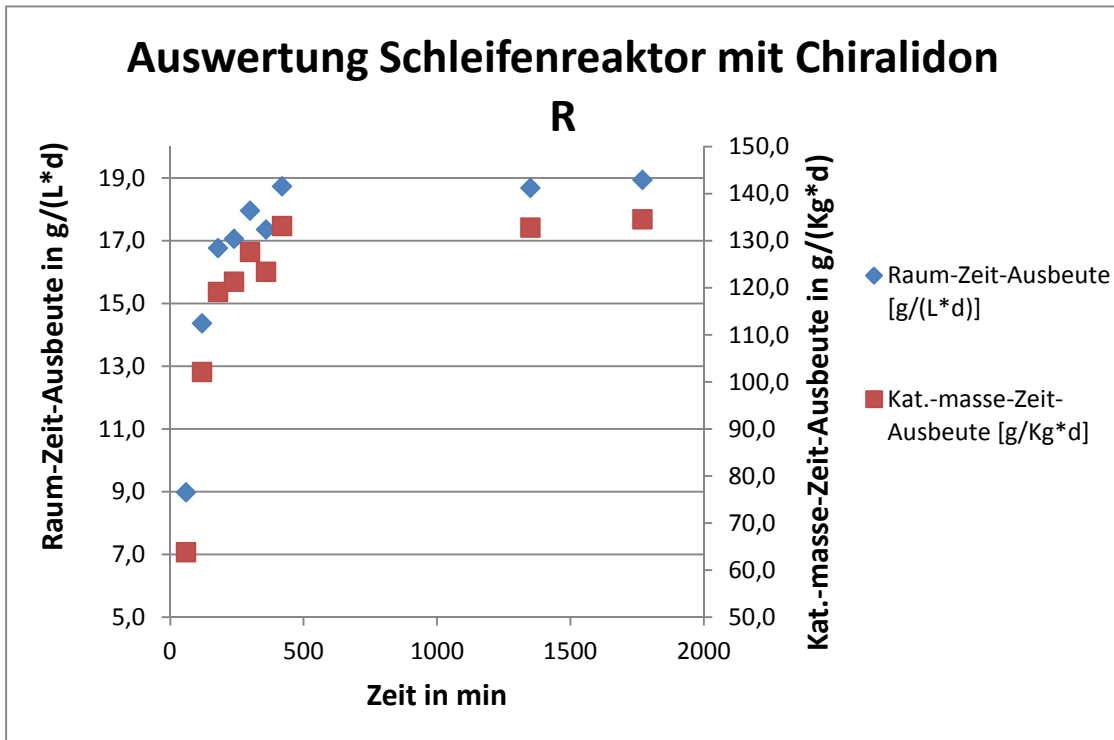


Diagramm 182: Schleifenansatz Raum-Zeit-Ausbeute;  
Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

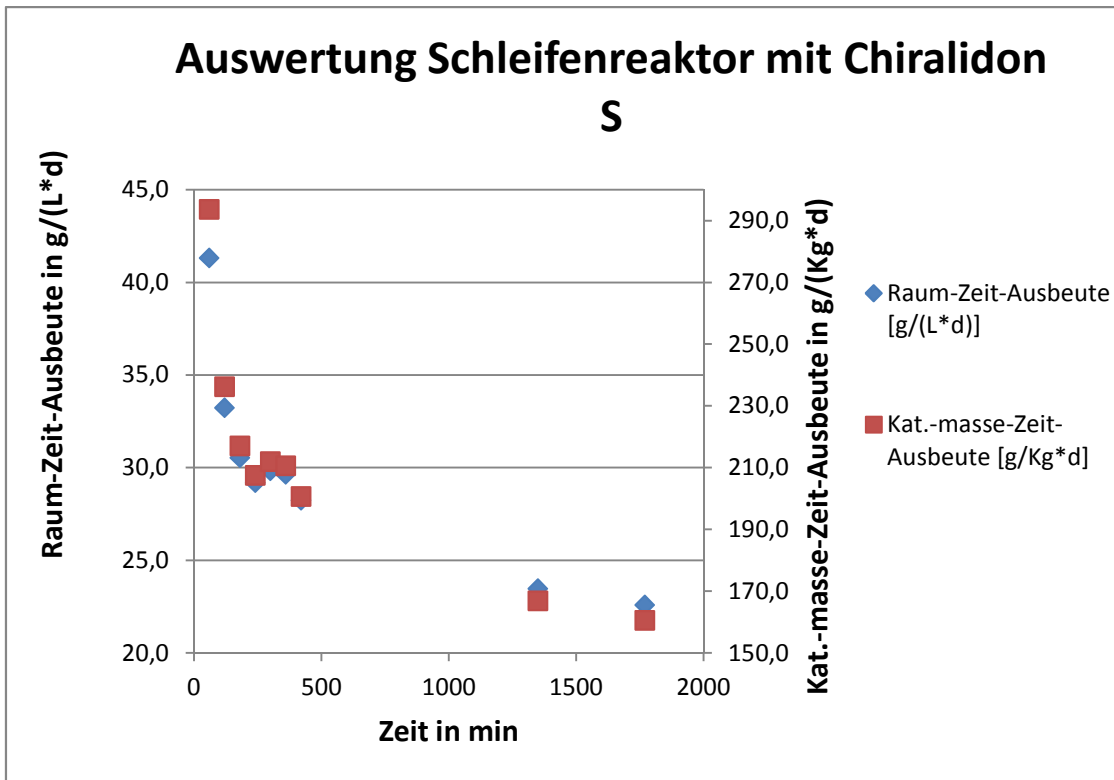


Diagramm 13: Schleifenansatz Raum-Zeit-Ausbeute;  
Ethyl-(R)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Beide Diagramme zeigen, dass die Raum-Zeit-Ausbeuten einem Gleichgewichtszustand entgegenstreben. Interessant ist hierbei das gegenläufige Verhalten der beiden Katalysatoren. Beim Chiralidon R steigen die Raum-Zeit-Ausbeuten und streben ein Gleichgewicht von ca. 19 g/(L\*d) an, während das Chiralidon S sinkende Werte vorweist und das Gleichgewicht von ca. 22 g/(L\*d) anstrebt.

### 3.6.2 Bestimmung der Enantiomerenüberschüsse

Die Bestimmung der Enantiomerenüberschüsse erfolgt mittels Gaschromatograph an einer chiralen Säule. Analog der Umsatzbestimmung, müssen auch hier die Retentionszeiten ermittelt werden. Die Abbildung 24 zeigt eine deutliche Basislinientrennung der Enantiomere von 1-Phenylethanol.

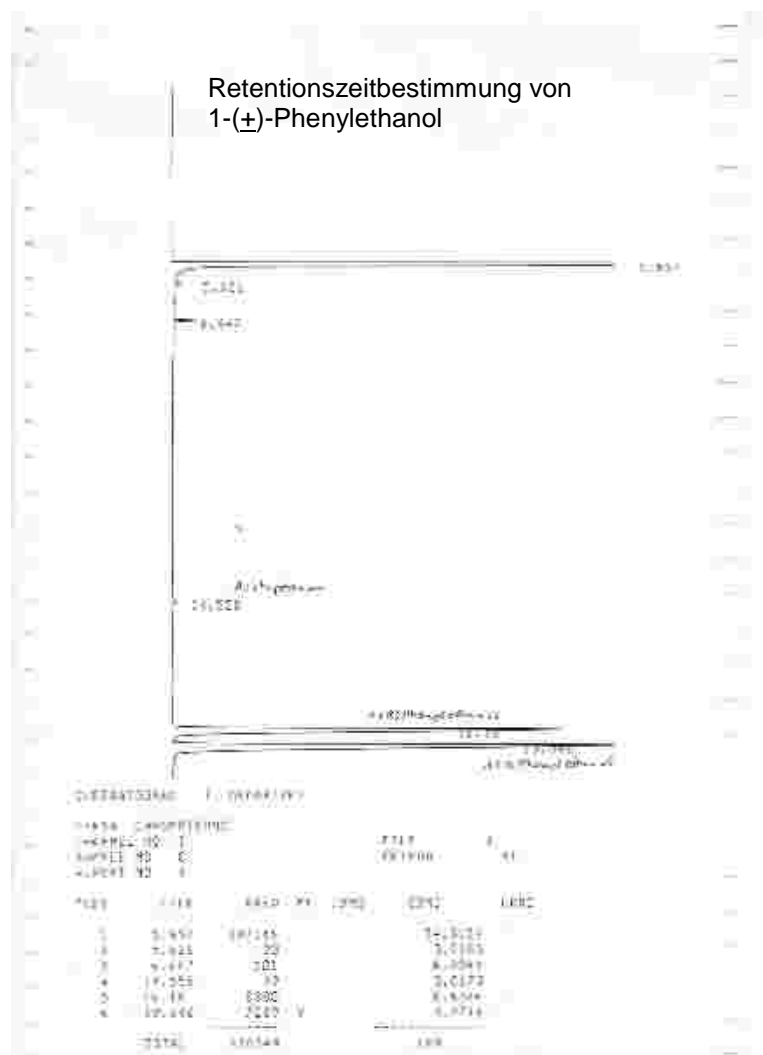


Abbildung 24: Retentionszeit von 1-Phenylethanol

Die Reinsubstanzen von 3-Hydroxybuttersäureethylester und Ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrat lassen sich mit der zur Verfügung stehenden Säule nicht trennen.

Eine Derivatisierung der Alkohole an ihren Hydroxygruppen mit N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoacetamid (MSTFA) bewirkt eine Antrennung der Racemate, aber keine Basislinientrennung. Die Derivatisierung mit MSTFA wird am Beispiel des 3-(R)-Hydroxybuttersäureethylesters in Abbildung 25 dargestellt.

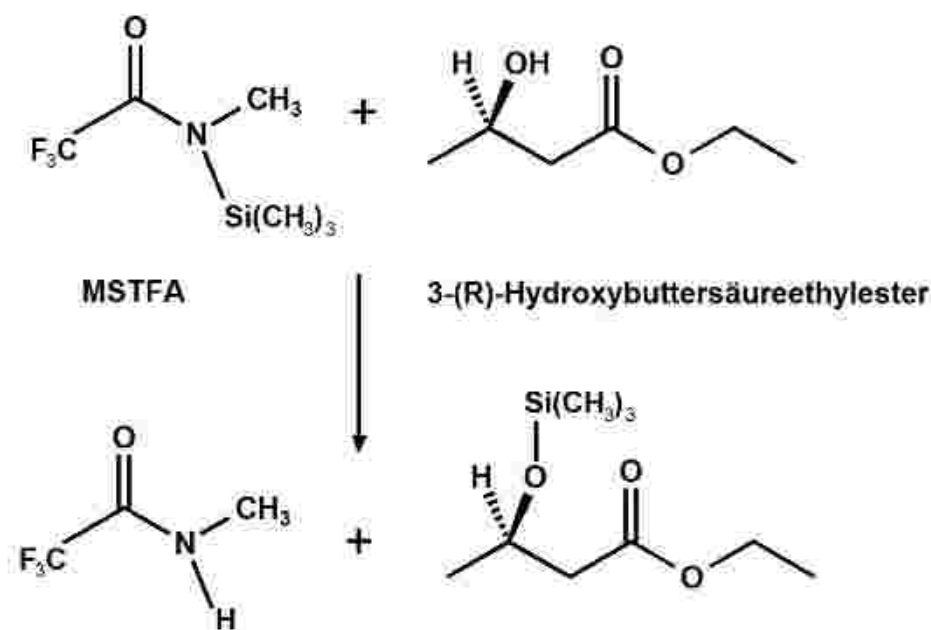


Abbildung 25: Reaktionsschema der Derivatisierung

Die Enantiomerenüberschüsse werden mit den Peakflächen der Chromatogramme berechnet. Wie bereits beschrieben, ist dies nur beim 1-Phenylethanol möglich. Die Bestimmung der Enantiomerenüberschüsse für Ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrat und 3-Hydroxybuttersäureethylester werden von der Firma Macherey-Nagel GmbH & Co. KG durchgeführt. In Kapitel 4.1.8.1 befinden sich die detaillierten Durchführungen.

### 3.6.2.1 Ergebnisse und Diskussion

Auf der zur Verfügung stehenden chiralen Säule lassen sich ( $\pm$ )-3-Hydroxybuttersäureethylester und Ethyl-( $\pm$ )-4-chlor-3-hydroxybutyrat nicht trennen. Es liegen Proben dieser Produkte der Firma Macherey-Nagel GmbH & Co. KG zur Analyse vor.

Das 1-(+)-Phenylethanol lässt sich auf der chiralen Säule trennen und somit der Enantiomerenüberschuss ee% bestimmen. Die Ergebnisse sind tabellarisch (Tab. 18) dargestellt.

Enantiomerenüberschuss				
Edukt	Produkt	Peakfläche R-Enantiomer	Peakfläche S-Enantiomer	ee%
Acetophenon	1-(R)-Phenylethanol	3076	nicht integriert	>99 %
	1-(S)-Phenylethanol	nicht integriert	1074	>99 %

*Tabelle 18: Ergebnisse Enantiomerenüberschuss*

Die Produkte können nur mit einem Enantiomerenüberschuss von >99 % angegeben werden, da auf den Chromatogrammen (Abb. 26 und 27) Peaks des nicht erwünschten Enantiomers zu erkennen sind, diese aber nicht vom Integrator erfasst werden. Es ist anzunehmen, dass die Reaktionsbedingungen der Umsetzung des Ketons zur Oxim-O-sulfonsäure für die Racemesierung des 1-Phenylethanols verantwortlich sind.

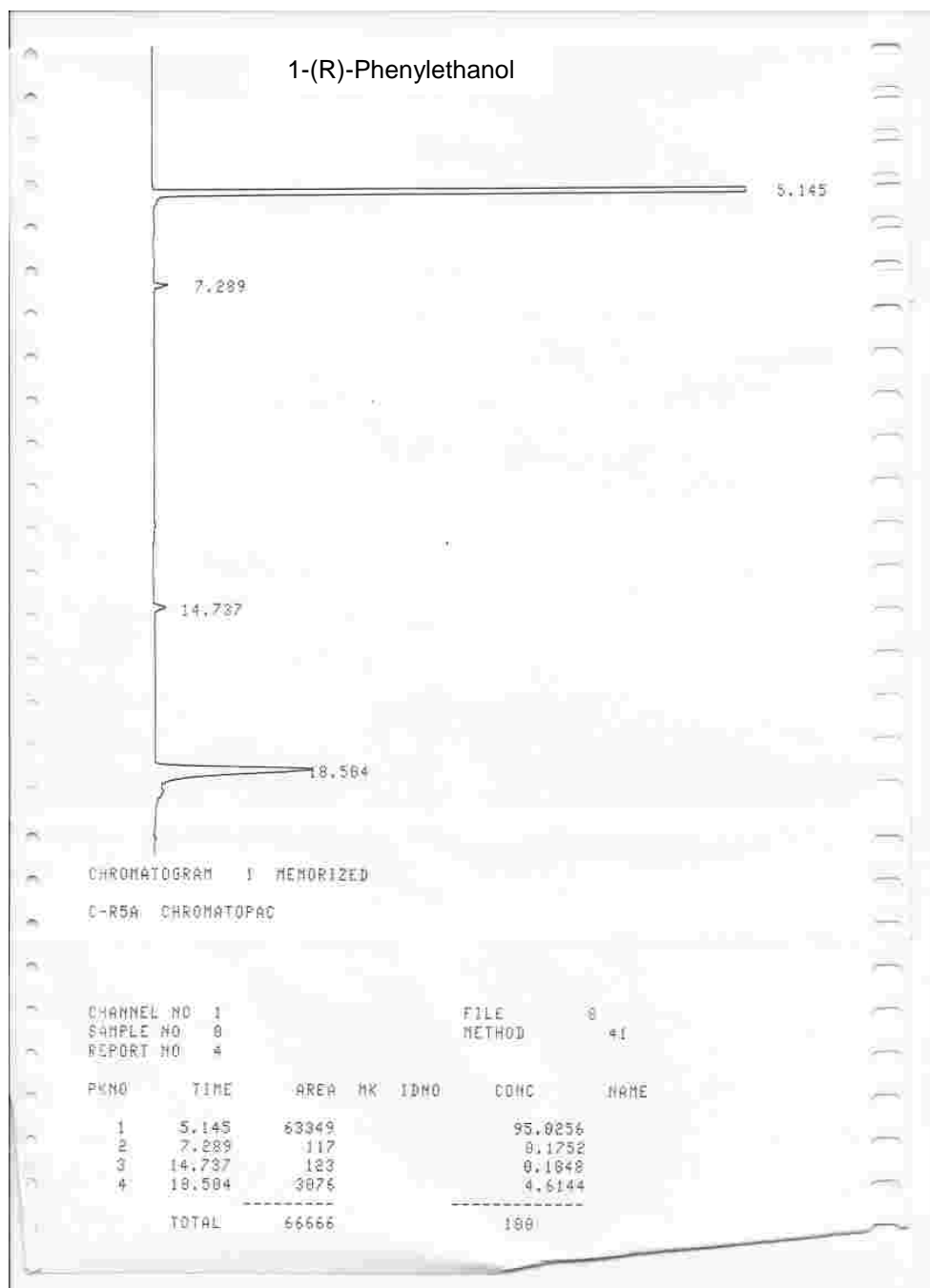


Abbildung 26: Chromatogramm 1-(R)-Phenylethanol

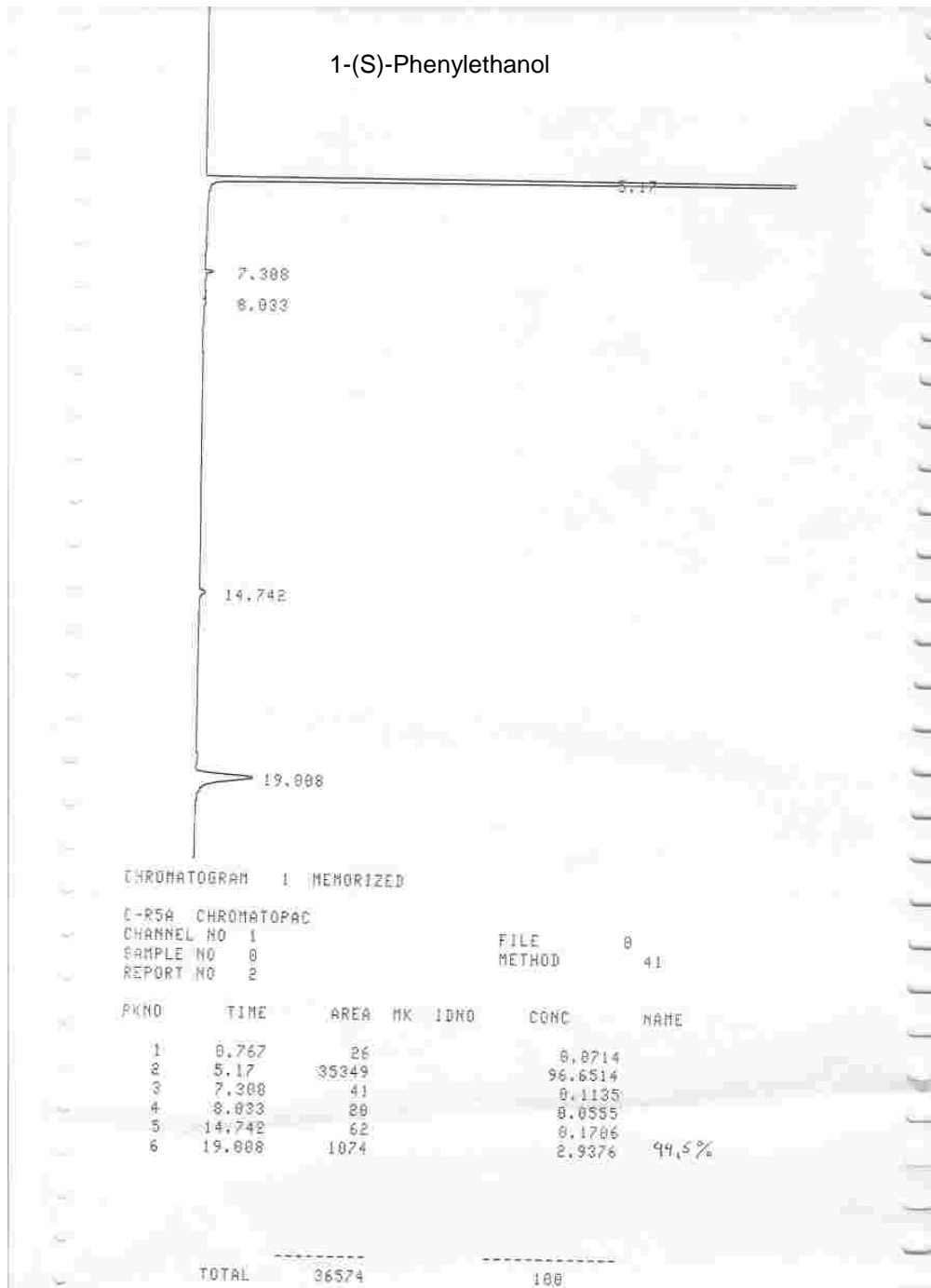


Abbildung 27: Chromatogramm 1-(S)-Phenylethanol

### 3.6.3 Bestimmung der spezifischen Drehwerte

Der spezifische Drehwert wird in einem Polarimeter bestimmt. Hierfür wird eine Lösung des Produkts mit definierter Konzentration hergestellt. Im Falle des Ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrats wird die Reinsubstanz verwendet. Die Proben werden nacheinander in eine Küvette gegeben und im Polarimeter der Drehwinkel  $\alpha$  gemessen. Aus diesem Winkel lässt sich der spezifische Drehwert errechnen und mit Herstellerangaben (Lit. 10) vergleichen.

#### 3.6.3.1 Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse der Drehwertbestimmung werden in Tabelle 19 dargestellt.

Spezifischer Drehwert $[\alpha]_D^T$			
Produkt	Drehwinkel [°] gemessen	spezifischer Drehwert [°] errechnet	spezifischer Drehwert [°] Literatur
3-(R)- Hydroxybuttersäure- ethylester	-0,229	-43,7	-43
3-(S)- Hydroxybuttersäure- ethylester	0,232	43,4	43
1-(R)-Phenylethanol	0,989	39,4	$45 \pm 2$
1-(S)-Phenylethanol	-0,999	-39,7	$-45 \pm 2$
Ethyl-(R)-4-chloro-3- hydroxybutyrat	8,659	14,6	14
Ethyl-(S)-4-chloro-3- hydroxybutyrat	-8,145	-13,7	-14

Tabelle 19: Ergebnisse Spezifischer Drehwert

Die errechneten spezifischen Drehwerte zeigen, dass die Produkte wie erwartet hohe optische Reinheiten besitzen. Beim 3-Hydroxybuttersäureethylester, sowie beim Ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrat, können die Abweichungen zur Literatur durch

unterschiedliche Prüfbedingungen, wie Produktreinheit, Temperatur und Lösungsmittelreinheit erklärt werden. Beim 1-Phenylethanol sind neben den Prüfbedingungen auch die Chromatogramme zur Bestimmung der Enantiomerenüberschüsse zu beachten. Diese zeigen, dass geringe Mengen Edukt und Gegenantiomer im Produkt enthalten sind.

### 3.7 Gesamtdiskussion

Die Ergebnisse der Umsatzbestimmungen zeigen, dass mit steigender Verweilzeit auch die Umsätze steigen. Allerdings führen steigende Verweilzeiten auch zu sinkenden Raum-Zeit-Ausbeuten. Für die Substratkonzentration lässt sich sagen, dass mit steigender Konzentration die Umsätze sinken und die Raum-Zeit-Ausbeuten steigen.

Für ein wirtschaftlich orientiertes Unternehmen ist eine Kostenrechnung von Nöten, die klärt, ob die Aufarbeitungskosten eines Produktes höher sind als die zusätzlichen Arbeitszeitkosten, die durch größere Verweilzeiten entstehen.



## 4 Experimenteller Teil

### 4.1 Allgemeine Versuchsvorschriften

#### 4.1.1 Katalysatorherstellung

##### 4.1.1.1 Chiralidon S

Chemikalien:

140,0 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ -Pufferlösung pH 6,5

222 mg  $\text{MgCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$

360 mg NADP

64 ml ADH 005 mit 615 U/mL

7 mg Farbstoff D&C green No. 8

5 ml VE-Wasser

80,122g Favor

i-Propanol

Phosphorpentoxid

Durchführung:

Der Phosphatpuffer wird in einem Becherglas vorgelegt und mit einem Magnetrührer und Rührfisch durchmischt. Anschließend wird dem Puffer Magnesiumchlorid zugegeben und solange gerührt bis eine klare Lösung entsteht. In die klare Lösung wird das NADP gegeben und durchmischt. Sobald eine klare Lösung entsteht, wird dieser Lösung das ADH zugeführt und zehn Minuten gerührt. Während dieser Zeit wird der Farbstoff in einem 5 mL-Messkolben abgewogen und mit VE-Wasser gelöst. Der gelöste Farbstoff wird der Enzymlösung zugegeben und für weitere fünf Minuten durchmischt. Im Anschluss wird der Superabsorber „Favor“ zugegeben und der Magnetrührer ausgeschaltet.

Nach 20 Minuten Quellzeit wird das Chiralidon über einen Büchner-Trichter abgesaugt und mit i-Propanol nachgewaschen.

1. Nachwaschen mit 200 mL
2. Nachwaschen mit 150 mL
3. Nachwaschen mit 150 mL

Das abgesaugte Chiralidon S wird bis zur Massenkonstanz in einem evakuierten Exsikkator über Phosphorpentoxid getrocknet und anschließend die Ausbeute bestimmt.

#### 4.1.1.2 Chiralidon R

141,2 g  $\text{K}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ -Pufferlösung pH 6,5  
208 mg  $\text{MgCl}_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$   
361 mg NADP  
30 ml ADH 002 mit 1360 U/mL  
7 mg Farbstoff FD&C red No. 40  
5 ml VE-Wasser  
50,044g Favor  
i-Propanol  
Phosphorpentoxid

Durchführung:

Der Phosphatpuffer wird in einem Becherglas vorgelegt und mit einem Magnetrührer und Rührfisch durchmischt. Anschließend wird dem Puffer Magnesiumchlorid zugegeben und solange gerührt bis eine klare Lösung entsteht. In die klare Lösung wird das NADP gegeben und durchmischt. Sobald eine klare Lösung entsteht, wird dieser Lösung das ADH zugeführt und zehn Minuten gerührt. Während dieser Zeit wird der Farbstoff in einem 5 mL-Messkolben abgewogen und mit VE-Wasser gelöst. Der gelöste Farbstoff wird der Enzymlösung zugegeben und für weitere fünf Minuten durchmischt. Im Anschluss wird der Superabsorber Favor zugegeben und der Magnetrührer ausgeschaltet. Nach 20 Minuten Quellzeit wird das Chiralidon über einen Büchner-Trichter abgesaugt und mit i-Propanol nachgewaschen.

1. Nachwaschen mit 200 mL
2. Nachwaschen mit 150 mL
3. Nachwaschen mit 150 mL

Das abgesaugte Chiralidon R wird bis zur Massenkonstanz in einem evakuierten Exsikkator über Phosphorpentoxid getrocknet und anschließend die Ausbeute bestimmt.

#### 4.1.2 Wassergehaltsbestimmung

Zur Bestimmung des Wassergehaltes werden dem im Exsikkator getrocknetem Chiralidon jeweils zwei Proben entnommen und im Trockenschrank bis zur Massenkonstanz getrocknet.

Tara der Trockenschalen:	R1	= 17,2416 g
	R2	= 18,1283 g
	S1	= 22,0733 g
	S2	= 18,8172 g

Masse Trockenschale mit Probe:	R1	= 17,4395 g
	R2	= 18,3639 g
	S1	= 22,2681 g
	S2	= 19,0129 g

Der Trockenschrank wird auf 115°C aufgeheizt und anschließend werden die Proben in den Trockenschrank gegeben. Nach 32 Stunden wird die erste Wägung durchgeführt.

Masse nach 32 h bei 115°C:	R1	= 17,4251 g
	R2	= 18,3471 g
	S1	= 22,2481 g
	S2	= 18,9920 g

Nach weiteren 16 Stunden im Trockenschrank wird die zweite Wägung durchgeführt.

Masse nach 48 h bei 115°C:	R1	= 17,4252 g
	R2	= 18,3471 g
	S1	= 22,2481 g
	S2	= 18,9921 g

Der Massenvergleich zeigt an, dass Massenkonstanz herrscht und die Trocknung beendet werden kann. Aus den ermittelten Werten wird nun der Wassergehalt errechnet.

### 4.1.3 Vorbereitung und Geometrie der Festbettreaktoren

#### 4.1.3.1 Vorbereitung:

Die Reaktoren werden auf einer Waage mit getrocknetem Katalysator gefüllt und die eingewogene Masse notiert. Durch leichtes Schütteln wird die Schüttung verdichtet. Nach Aufbau der Reaktionsapparatur werden die Reaktoren mit dem Eluenten gespült und der Katalysator zum Quellen gebracht.

Eingestellter Volumenstrom zum Spülen = 0,05 mL/min

Spülmenge = 50 mL i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Nachdem der Katalysator gequollen ist, wird die Füllhöhe in den Reaktoren bestimmt.

#### 4.1.3.2 Geometrie

Säulenreaktor:

	Durchmesser	Füllhöhe	Reaktionsvolumen	Katalysatormasse
1. Füllung				
Chiralidon R	1,5 cm	16,0 cm	28,3 cm <sup>3</sup>	14,6908 g
Chiralidon S	1,5 cm	15,8 cm	27,9 cm <sup>3</sup>	10,9914 g
2. Füllung				
Chiralidon R	1,5 cm	20,0 cm	35,3 cm <sup>3</sup>	19,0915 g
Chiralidon S	1,5 cm	20,0 cm	35,3 cm <sup>3</sup>	17,8164 g
3. Füllung				
Chiralidon R	1,5 cm	20,0 cm	35,3 cm <sup>3</sup>	21,3221 g
Chiralidon S	1,5 cm	20,0 cm	35,3 cm <sup>3</sup>	21,5462 g
4. Füllung				
Chiralidon R	1,5 cm	20,0 cm	35,3 cm <sup>3</sup>	23,0391 g
Chiralidon S	1,5 cm	20,0 cm	35,3 cm <sup>3</sup>	22,5595 g

*Tabelle 20: Reaktorgeometrie; Säulenreaktor*

Schlauchreaktor:

	Durchmesser	Füllhöhe	Reaktionsvolumen	Katalysatormasse
1. Füllung				
Chiralidon R	0,6 cm	113,0 cm	31,9 cm <sup>3</sup>	20,0 g
Chiralidon S	0,6 cm	112,5 cm	31,8 cm <sup>3</sup>	20,0 g

Tabelle 21: Reaktorgeometrie; Schlauchreaktor

#### 4.1.4 Umsetzungen von Acetessigester

Herstellung von 3-(R)-Hydroxybuttersäureethylester mit Chiralidon R und 3-(S)-Hydroxybuttersäureethylester mit Chiralidon S

##### Charge SM121011-1

Verwendete Reaktoren: Säulenreaktor 1. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R: 5,0 g Acetessigester (= 38,4 mmol)  
45,4 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)  
20 mL i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Chiralidon S: 4,9 g Acetessigester (= 37,7 mmol)  
43,6 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)  
20 mL i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Durchführung:

Der Ester wird in bereitgestellte Vorratsgefäße eingewogen und in i-Propanol/Wasser gelöst. Die Vorratsgefäße werden mit den Ansaugschläuchen der Reaktoren verbunden. An den Reaktorausläufen werden Auffangbehälter angeschlossen. Nach Überprüfung der Schlauchverbindungen auf festen Sitz, werden die Fördergeschwindigkeiten der Pumpen eingestellt und die Reaktionen gestartet.

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,57 mL/min  
bei 5 % Drehgeschwindigkeit der Pumpe

Chiralidon S: Gilson miniplus 2 Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,96 mL/min  
bei 5 % Drehgeschwindigkeit der Pumpe

Nach Durchlaufen der Reaktionslösungen werden die Reaktoren nachgewaschen. Die Reaktionslösungen werden im Rotationsverdampfer bei 60°C und 100 mbar eingengt, anschließend vakuumdestilliert. Bei der Vakuumdestillation kann nur der Druck mit 13 mbar angegeben werden, da aufgrund zu geringer Substanzmengen kein thermisches Gleichgewicht am Thermometer eingestellt wird.

Die folgenden Chargen werden analog der ersten Charge durchgeführt, deshalb werden nur die veränderbaren Variablen aufgelistet.

#### Charge SM121011-2

Verwendete Reaktoren: Säulenreaktor 1. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R: 2,5 g Acetessigester (= 19,2 mmol)

46,7 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Chiralidon S: 2,5 g Acetessigester (= 19,2 mmol)

47,7 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Pumpeneinstellungen:

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe

ermittelter Volumenstrom 0,05 mL/min

bei 0,01 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe

Chiralidon S: Gilson miniplus 2 Pumpe

ermittelter Volumenstrom 0,25 mL/min

bei 0,1 % Drehgeschwindigkeit der Pumpe

#### Charge SM121015-3

Verwendete Reaktoren: Säulenreaktor 1. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R: 2,5 g Acetessigester (= 19,2 mmol)  
46,9 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)  
Chiralidon S: 2,5 g Acetessigester (= 19,2 mmol)  
47,8 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Pumpeneinstellungen:

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,15 mL/min  
bei 0,02 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe  
Chiralidon S: Gilson miniplus 2 Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,17 mL/min  
bei < 0,1 % Drehgeschwindigkeit der Pumpe

Charge SM121016-4

Verwendete Reaktoren: Säulenreaktor 1. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R: 2,5 g Acetessigester (= 19,2 mmol)  
47,2 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)  
Chiralidon S: 2,5 g Acetessigester (= 19,2 mmol)  
48,1 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Pumpeneinstellungen:

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,28 mL/min  
bei 0,02 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe  
Chiralidon S: Gilson miniplus 2 Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,19 mL/min  
bei < 0,1 % Drehgeschwindigkeit der Pumpe

### Charge SM121017-5

Verwendete Reaktoren: Säulenreaktor 1. Füllung

Ansaugschläuche sind erneuert worden

Chemikalien:

Chiralidon R: 2,5 g Acetessigester (= 19,2 mmol)

47,5 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Chiralidon S: 2,5 g Acetessigester (= 19,2 mmol)

47,5 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Pumpeneinstellungen:

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe

ermittelter Volumenstrom 0,17 mL/min

bei 0,02 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe

Chiralidon S: Gilson miniplus 2 Pumpe

ermittelter Volumenstrom 0,19 mL/min

bei < 0,1 % Drehgeschwindigkeit der Pumpe

### Charge SM121023-1

Verwendete Reaktoren: Säulenreaktor 2. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R: 6,0 g Acetessigester (= 46,1 mmol)

144,1 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Chiralidon S: 6,0 g Acetessigester (= 46,1 mmol)

144,0 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Pumpeneinstellungen:

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe

ermittelter Volumenstrom 0,17 mL/min

bei 0,02 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe

Chiralidon S: Gilson miniplus 2 Pumpe



ermittelter Volumenstrom 0,19 mL/min  
bei < 0,1 % Drehgeschwindigkeit der Pumpe

#### Charge SM121105-2

Verwendete Reaktoren: Säulenreaktor 2. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R:	2,4 g	Produkt aus Charge SM121011-1
	48,1 g	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)
Chiralidon S:	2,7 g	Produkt aus Charge SM121011-1
	47,2 g	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Pumpeneinstellungen:

Chiralidon R:	BIO-RAD Econo Pumpe
	ermittelter Volumenstrom 0,17 mL/min
	bei 0,02 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe
Chiralidon S:	Gilson miniplus 2 Pumpe
	ermittelter Volumenstrom 0,19 mL/min
	bei < 0,1 % Drehgeschwindigkeit der Pumpe

#### 4.1.5 Umsetzungen von Acetophenon

Herstellung von 1-(R)-Phenylethanol mit Chiralidon R und 1-(S)- Phenylethanol mit Chiralidon S

Vor dem Substratwechsel werden die Säulen mit jeweils zusätzlich 50 ml i-Propanol/Wasser (9:1, v/v) gespült.

### Charge SM121107-3

Verwendete Reaktoren: Säulenreaktor 2. Füllung

#### Chemikalien:

Chiralidon R:	6,0 g	Acetessigester (= 49,9 mmol)
	96,7 g	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)
	20 mL	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)
Chiralidon S:	6,0 g	Acetessigester (= 49,9 mmol)
	94,5 g	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)
	20 mL	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

#### Durchführung:

Das Acetophenon wird in bereitgestellte Vorratsgefäße eingewogen und in i-Propanol/Wasser gelöst. Die Vorratsgefäße werden mit den Ansaugschläuchen der Reaktoren verbunden. An den Reaktorausläufen werden Auffangbehälter angeschlossen. Nach Überprüfung der Schlauchverbindungen auf festen Sitz, werden die Fördergeschwindigkeiten der Pumpen eingestellt und die Reaktionen gestartet.

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,1 mL/min  
bei 0,12 mL/min Soll-Volumenstrom

Chiralidon S: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,1 mL/min  
bei 0,13 mL/min Soll-Volumenstrom

Nach Durchlaufen der Reaktionslösungen werden die Reaktoren nachgewaschen. Die Reaktionslösungen werden im Rotationsverdampfer bei 60°C und 100 mbar eingeeengt, anschließend vakuumdestilliert. Bei der Vakuumdestillation kann nur der Druck mit 13 mbar angegeben werden, da aufgrund zu geringer Substanzmengen kein thermisches Gleichgewicht am Thermometer eingestellt wird.

Die folgenden Chargen werden analog der ersten Charge durchgeführt, deshalb werden nur die veränderbaren Variablen aufgelistet.

#### Charge SM121112-4

Verwendete Reaktoren: Säulenreaktor 2. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R:	6,0 g	Acetophenon (= 49,9 mmol)
	95,8 g	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)
Chiralidon S:	6,1 g	Acetophenon (= 50,8 mmol)
	93,1 g	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Pumpeneinstellungen:

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,02 mL/min  
bei 0,01 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe

Chiralidon S: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,02 mL/min  
bei 0,01 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe

Da bei der Aufarbeitung der Produkte signifikante Ausbeuteverluste entstehen, werden die folgenden Chargen gesammelt, bei 4°C im Kühlschrank gelagert und später gemeinsam als Großansatz aufgearbeitet.

#### Charge SM121119-5

Verwendete Reaktoren: Säulenreaktor 2. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R:	1,5 g	Acetophenon (= 12,5 mmol)
	95,8 g	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)
Chiralidon S:	1,5 g	Acetophenon (= 12,5 mmol)
	93,1 g	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Pumpeneinstellungen:

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,02 mL/min

bei 0,01 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe  
Chiralidon S: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,02 mL/min  
bei 0,01 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe

#### Charge SM121128-1

Verwendete Reaktoren: Schlauchreaktor 1. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R: 3,0 g Acetophenon (= 25 mmol)  
47,0 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)  
Chiralidon S: 3,0 g Acetophenon (= 25 mmol)  
47,0 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Pumpeneinstellungen:

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,02 mL/min  
bei 0,01 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe  
Chiralidon S: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,02 mL/min  
bei 0,01 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe

#### Charge SM121203-2

Verwendete Reaktoren: Schlauchreaktor 1. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R: 3,0 g Acetophenon (= 25 mmol)  
47,0 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)  
Chiralidon S: 3,0 g Acetophenon (= 25 mmol)  
47,0 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Pumpeneinstellungen:

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe

ermittelter Volumenstrom 0,10 mL/min  
bei 0,12 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe  
Chiralidon S: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,10 mL/min  
bei 0,13 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe

#### Charge SM121204-3

Verwendete Reaktoren: Schlauchreaktor 1. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R: 3,0 g Acetophenon (= 25 mmol)  
47,0 g i- Propanol/Wasser (9:1, v/v)  
Chiralidon S: 3,0 g Acetophenon (= 25 mmol)  
47,0 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Pumpeneinstellungen:

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,05 mL/min  
bei 0,06 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe  
Chiralidon S: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,05 mL/min  
bei 0,07 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe

#### Charge SM121205-4

Verwendete Reaktoren: Schlauchreaktor 1. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R: 3,0 g Acetophenon (= 25 mmol)  
47,0 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)  
Chiralidon S: 3,0 g Acetophenon (= 25 mmol)  
47,0 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Pumpeneinstellungen:

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,02 mL/min  
bei 0,01 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe

Chiralidon S: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,02 mL/min  
bei 0,01 mL/min Soll-Volumenstrom der Pumpe

#### 4.1.6 Umsetzungen von 4-Chloracetessigester

Herstellung von Ethyl-(R)-4-chloro-3-hydroxybutyrat mit Chiralidon S und  
Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat mit Chiralidon R

##### Charge SM121217-1

Verwendete Reaktoren: Säulenreaktor 3. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R: 3,0 g 4- Chloracetessigester (=18,2 mmol)  
47,0 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)  
20 mL i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Chiralidon S: 3,0 g 4-Chloracetessigester (= 18,2 mmol)  
47,0 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)  
20 mL i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Durchführung:

Der 4-Chloracetessigester wird in bereitgestellte Vorratsgefäße eingewogen und in i-Propanol/Wasser gelöst. Die Vorratsgefäße werden mit den Ansaugschläuchen der Reaktoren verbunden. An den Reaktorausläufen werden Auffangbehälter angeschlossen. Nach Überprüfung der Schlauchverbindungen auf festen Sitz, werden die Fördergeschwindigkeiten der Pumpen eingestellt und die Reaktionen gestartet.

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,077 mL/min  
bei 0,05 mL/min Soll-Volumenstrom

Chiralidon S: BIO-RAD Econo Pumpe

ermittelter Volumenstrom 0,07 mL/min  
bei 0,05 mL/min Soll-Volumenstrom

Nach Durchlaufen der Reaktionslösungen werden die Reaktoren nachgewaschen. Um Ausbeuteverluste möglichst gering zu halten, werden die Reaktionslösungen gesammelt, im Kühlschrank bei 4°C gelagert und später als ein Großansatz aufgearbeitet.

Die folgenden Chargen sind identisch der ersten Charge abgelaufen und werden deshalb nicht weiter beschrieben. Diese Ansätze dienen zur Bestimmung der Zykluszahl.

Chargen: SM121218-2  
SM121219-3  
SM121220-4  
SM130102-5  
SM130107-6  
SM130108-7

Die folgenden Chargen werden analog der vorherigen Chargen durchgeführt, deshalb werden nur die veränderbaren Variablen aufgelistet.

Charge SM130110-1

Verwendete Reaktoren: Säulenreaktor 4. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R:	3,0 g	4-Chloracetessigester (=18,2 mmol)
	47,0 g	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)
	20 mL	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)
Chiralidon S:	3,0 g	4-Chloracetessigester (= 18,2 mmol)
	47,0 g	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)
	20 mL	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Pumpeneinstellungen:

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe

ermittelter Volumenstrom 0,02 mL/min  
bei 0,01 mL/min Soll-Volumenstrom  
Chiralidon S: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,02 mL/min  
bei 0,01 mL/min Soll-Volumenstrom

#### Charge SM130115-2

Verwendete Reaktoren: Säulenreaktor 4. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R:	3,0 g	4-Chloracetessigester (=18,2 mmol)
	47,0 g	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)
	20 mL	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)
Chiralidon S:	3,0 g	4-Chloracetessigester (= 18,2 mmol)
	47,0 g	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)
	20 mL	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Pumpeneinstellungen:

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,13 mL/min  
bei 0,10 mL/min Soll-Volumenstrom  
Chiralidon S: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,12 mL/min  
bei 0,10 mL/min Soll-Volumenstrom

#### Charge SM130116-3

Verwendete Reaktoren: Säulenreaktor 4. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R:	6,0 g	4-Chloracetessigester (=36,5 mmol)
	44,0 g	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)
	20 mL	i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)
Chiralidon S:	6,0 g	4-Chloracetessigester (= 36,5 mmol)



44,0 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)  
20 mL i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Pumpeneinstellungen:

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,05 mL/min  
bei 0,077 mL/min Soll-Volumenstrom

Chiralidon S: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,05 mL/min  
bei 0,07 mL/min Soll-Volumenstrom

Der folgende Ansatz ist nicht wie die Vorherigen in einem kontinuierlich betriebenen Festbettreaktor gefahren worden, sondern in einem Festbettreaktor im Schleifenbetrieb. Der prinzipielle Aufbau der Reaktoren ist identisch. In diesem Fall jedoch, wird die Reaktionslösung im Vorratsbehälter mit einem Magnetrührer und Rührfisch durchmischt und nach Durchlaufen des Reaktors wieder dem Vorratsbehälter zurückgeführt. Dabei wird der Reaktionsverlauf durch zeitabhängige Probenentnahmen überwacht.

Charge SM130121-5

Verwendete Reaktoren: Säulenreaktor 4. Füllung

Chemikalien:

Chiralidon R: 12,0 g 4-Chloracetessigester (=72,9 mmol)  
88,0 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)  
20 mL i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Chiralidon S: 12,0 g 4-Chloracetessigester (= 72,9 mmol)  
88,0 g i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)  
20 mL i-Propanol/Wasser (9:1, v/v)

Pumpeneinstellungen:

Chiralidon R: BIO-RAD Econo Pumpe  
ermittelter Volumenstrom 0,75 mL/min

bei 0,87 mL/min Soll-Volumenstrom  
 Chiralidon S: BIO-RAD Econo Pumpe  
 ermittelter Volumenstrom 0,75 mL/min  
 bei 0,92 mL/min Soll-Volumenstrom

Zeitpunkt der Probenentnahme nach Reaktionsstart:

laufende Proben-Nummer	Zeit nach Reaktionsstart in Minuten
1	60
2	120
3	180
4	240
5	300
6	360
7	420
8	1350
9	1770

*Tabelle 19: Zeitliche Probenentnahme*

#### 4.1.7 Aufarbeitung der Produkte

##### 4.1.7.1 Aufarbeitung von 3-Hydroxybuttersäureethylester

###### 3-(R)-Hydroxybuttersäureethylester

Chemikalien:

6,1 g Produkt aus 3-(R)-Hydroxybuttersäureethylester  
 4,7 g wässrige Hydroxylamin-Lösung (w = 50%)  
 = Dreifache molare Menge der zu erwartenden Keton-Menge  
 30 mL t-BME  
 2 x 20 mL t-BME  
 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wasserfrei  
 30 mL t-BME

Durchführung:

Das Rohprodukt wird in einen verschließbaren Erlenmeyerkolben gegeben und in t-BME gelöst. Der Lösung wird das Hydroxylamin zugegeben und mittels Magnetrührer stark gerührt. Es wird halbstündlich eine Probe entnommen und mittels Gaschromatographie der Umsatz bestimmt. Nach zwei Stunden ist das Keton vollständig zum Oxim umgesetzt. Anschließend wird aufgearbeitet.

Hierfür wird das zweiphasige Reaktionsgemisch in einen Scheidetrichter überführt und eine Phasentrennung vorgenommen. Die untere, wässrige Phase wird aufgefangen und zweimal mit t-BME ausgeschüttelt. Die oberen, organischen Phasen werden gesammelt und über  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  (wasserfrei) im Kühlschrank bei  $4^\circ\text{C}$  über Nacht getrocknet.

Die getrocknete Lösung wird über einen Büchner-Trichter und Saugflasche filtriert. Der Filterkuchen wird dreimal mit jeweils 10 mL t-BME nachgewaschen.

Im Rotationsverdampfer wird der leichtsiedende t-BME der Lösung entzogen.

Einstellungen:                     $55^\circ\text{C}$   
  300 mbar zu Beginn  
  100 mbar zum Ende

Der Sumpf wird zur Reinigung vakuumdestilliert.

$74^\circ\text{C}$  Kopftemperatur bei 13 mbar

Auswaage:                        1,7 g

Ausbeute:                        8,1 %

### 3-(S)-Hydroxybuttersäureethylester

Die Aufarbeitung der 3-(S)-Hydroxybuttersäureethylester- Ansätze erfolgt analog zu den 3-(R)-Hydroxybuttersäureethylester- Ansätze. Aus diesem Grund werden nur die benutzten Chemikalien aufgelistet.

Chemikalien:

11,9 g                    Produkt aus 3-(S)-Hydroxybuttersäureethylester  
4,6 g                    wässrige Hydroxylamin-Lösung (w = 50%)  
= Dreifache molare Menge der zu erwartenden Keton-Menge

30 mL	t-BME
2 x 20 mL	t-BME
	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> wasserfrei
30 mL	t-BME
Auswaage:	7,5 g
Ausbeute:	35,7 %

#### 4.1.7.2 Aufarbeitung von 1-Phenylethanol

##### 1-(R)-Phenylethanol

Chemikalien:

16,6 g	1-(R)-Phenylethanol aus Reaktionslösungen
47,7 g	Hydroxylamin-o-sulfonsäure
	= Dreifache molare Menge der zu erwartenden Keton-Menge
150 mL	t-BME
80 mL	VE-Wasser
	NaOH-Lösung 37,5%
2 x 50 mL	t-BME
	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> wasserfrei
30 mL	t-BME

Durchführung:

Die gesammelten Reaktionslösungen werden im Rotationsverdampfer bei 60°C und 100 mbar eingengt. Der Sumpf wird in t-BME gelöst und in einen verschließbaren Erlenmeyerkolben gegeben. Die Hydroxylamin-o-sulfonsäure wird in einem Becherglas abgewogen und in VE-Wasser gelöst. In einem Kühlbad wird der Hydroxylamin-Lösung solange Natronlauge zugegeben, bis ein pH-Wert von sechs erreicht ist. Die Lösungen werden vereinigt und mittels Magnetprüher stark gerührt. Es wird halbstündlich eine Probe entnommen und mittels Gaschromatographie der Umsatz bestimmt. Da das 1-(R)-Phenylethanol zu racemisieren beginnt, wird nach zwei Stunden die Reaktion beendet und aufgearbeitet.

Hierfür wird das zweiphasige Reaktionsgemisch in einen Scheidetrichter überführt und eine Phasentrennung vorgenommen. Die untere, wässrige Phase wird aufgefangen und zweimal mit t-BME ausgeschüttelt. Die oberen, organischen Phasen werden gesammelt und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (wasserfrei) im Kühlschrank bei 4°C über Nacht getrocknet.

Die getrocknete Lösung wird über einen Büchner-Trichter und Saugflasche filtriert. Der Filterkuchen wird dreimal mit jeweils 10 mL t-BME nachgewaschen.

Im Rotationsverdampfer wird der leichtsiedende t-BME der Lösung entzogen.

Einstellungen:                    55°C  
    300 mbar zu Beginn  
    100 mbar zum Ende

Der Sumpf wird zur Reinigung vakuumdestilliert.  
89°C Kopftemperatur bei 13 mbar

Auswaage:                        2,8 g  
Ausbeute:                         11,0 %

### 1-(S)-Phenylethanol

Die Aufarbeitung der 1-(S)-Phenylethanol- Ansätze erfolgt analog zu den 1-(R)-Phenylethanol- Ansätze. Aus diesem Grund werden nur die benutzen Chemikalien aufgelistet.

Chemikalien:

16,4 g	1-(S)-Phenylethanol aus Reaktionslösungen
46,5 g	Hydroxylamin-o-sulfonsäure = Dreifache molare Menge der zu erwartenden Keton-Menge
150 mL	t-BME
80 mL	VE-Wasser NaOH-Lösung 37,5%
2 x 50 mL	t-BME Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> wasserfrei
30 mL	t-BME

Auswaage: 3,1 g  
Ausbeute: 12,1 %

#### 4.1.7.3 Aufarbeitung von Ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrat

##### Ethyl-(R)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

##### Chemikalien:

12,6 g	Ethyl-(R)-4-chloro-3-hydroxybutyrat aus Reaktionslösung
15,7 g	wässrige Hydroxylamin-Lösung (w = 50%) = Dreifache molare Menge der zu erwartenden Keton-Menge
100 mL	t-BME
2 x 30 mL	t-BME
	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> wasserfrei
30 mL	t-BME

##### Durchführung:

Die gesammelten Reaktionslösungen werden im Rotationsverdampfer bei 60°C und 100 mbar eingengt. Der Sumpf wird in t-BME gelöst und in einen verschließbaren Erlenmeyerkolben gegeben. Der Lösung wird das Hydroxylamin zugegeben und mittels Magnetrührer stark gerührt. Es wird halbstündlich eine Probe entnommen und mittels Gaschromatographie der Umsatz bestimmt. Nach zwei Stunden ist das Keton vollständig zum Oxim umgesetzt. Anschließend wird aufgearbeitet.

Hierfür wird das zweiphasige Reaktionsgemisch in einen Scheidetrichter überführt und eine Phasentrennung vorgenommen. Die untere, wässrige Phase wird aufgefangen und zweimal mit t-BME ausgeschüttelt. Die oberen, organischen Phasen werden gesammelt und über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (wasserfrei) im Kühlschrank bei 4°C über Nacht getrocknet.

Die getrocknete Lösung wird über einen Büchner-Trichter und Saugflasche filtriert. Der Filterkuchen wird dreimal mit jeweils 10 mL t-BME nachgewaschen.

Im Rotationsverdampfer wird der leichtsiedende t-BME der Lösung entzogen.

Einstellungen:                    55°C  
    300 mbar zu Beginn  
    100 mbar zum Ende

Der Sumpf wird zur Reinigung vakuumdestilliert.

110°C Kopftemperatur bei 13 mbar

Auswaage:                        26,8 g  
Ausbeute :                        59,6 %

#### Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Die Aufarbeitung der Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat- Ansätze erfolgt analog zu den Ethyl-(R)-4-chloro-3-hydroxybutyrat- Ansätze. Aus diesem Grund werden nur die benutzten Chemikalien aufgelistet.

#### Chemikalien:

23,4 g                    Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat aus Reaktionslösung  
28,2 g                    wässrige Hydroxylamin-Lösung (w = 50%)  
                                  = Dreifache molare Menge der zu erwartenden Keton-Menge  
100 mL                  t-BME  
2 x 50 mL                t-BME  
                                  Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> wasserfrei  
30 mL                    t-BME

Auswaage:                        16,5 g  
Ausbeute :                        36,7 %

## 4.1.8 Analytik

### 4.1.8.1 Bestimmung der Umsetzung

Umsatzbestimmung von Acetessigester zu 3-Hydroxybuttersäureethylester

Geräte:	Gaschromatograph	Shimadzu, GC-14B
	Integrator	Shimadzu, C-R5A Chromatopac
	GC-Spritze	Hamilton 7000.5 KH 0,5 µL
	Kolbenhubpipetten	Thermo Scientific
		Finnpipette F3 10-100 µl
		Finnpipette F3 100-1000 µl
Säule:	FS-FFAP-CB	30 m
	Stationäre Phase:	PEG 20000 partiell verestert mit Nitroterephthalsäure
Parameter des Gaschromatographen:	Injektortemperatur	250 °C
	Detektortemperatur	250 °C
	Säulentemperatur	120 °C
	Carrier 1 N <sub>2</sub>	0,5 bar
	Carrier 2 N <sub>2</sub>	1,5 bar
	Wasserstoff	0,6 bar
	Druckluft	0,5 bar
	Split	1:30
	Einspritzmenge	0,03 µL



Chemikalien:	20 µL	Acetessigester
	20 µL	(±)-3-Hydroxybuttersäureethylester
		i-Propanol
	1 mL	Produkt/i-Propanol 1:50 je Ansatz

#### Durchführung:

Es werden am Gaschromatographen die erforderlichen Parameter eingestellt und auf eine stabile Basislinie am Integrator gewartet. Zur Bestimmung der Retentionszeiten wird jeweils eine Probe Acetessigester und eine Probe (±)-3-Hydroxybuttersäureethylester im Verhältnis 1:50 mit i-Propanol verdünnt und mit dem Gaschromatographen gemessen. Nach den Messungen sind die Retentionszeiten bekannt und die Proben der einzelnen Ansätze können nacheinander eingespritzt werden. Die erhaltenen Chromatogramme werden beschriftet, digitalisiert und ausgewertet.

#### Umsatzbestimmung von Acetophenon zu 1-Phenylethanol

Geräte:	Gaschromatograph	Shimadzu, GC-14B
	Integrator	Shimadzu, C-R5A Chromatopac
	GC-Spritze	Hamilton 7000.5 KH 0,5 µL
	Kolbenhubpipetten	Thermo Scientific
		Finnpipette F3 10-100 µl
		Finnpipette F3 100-1000 µl

Säule:	FS-FFAP-CB	30 m
	Stationäre Phase:	PEG 20000 partiell verestert mit Nitroterephthalsäure

Parameter des Gaschromatographen:	Injektortemperatur	250 °C
	Detektortemperatur	250 °C
	Säulentemperatur	150 °C
	Carrier 1 N <sub>2</sub>	0,5 bar
	Carrier 2 N <sub>2</sub>	1,5 bar
	Wasserstoff	0,6 bar
	Druckluft	0,5 bar

Split	1:30
Einspritzmenge	0,03 µL

Chemikalien:	20 µL	Acetophenon
	20 µL	1-(±)-Phenylethanol
		i-Propanol
	1 mL	Produkt/i-Propanol 1:50 je Ansatz

#### Durchführung:

Die Durchführung ist analog zu 3-Hydroxybuttersäureethylester und wird deshalb nicht näher beschrieben.

Umsatzbestimmung von 4-Chloracetessigester zu Ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Geräte:	Gaschromatograph	Shimadzu, GC-14B
	Integrator	Shimadzu, C-R5A Chromatopac
	GC-Spritze	Hamilton 7000.5 KH 0,5 µL
	Kolbenhubpipetten	Thermo Scientific
		Finnpipette F3 10-100 µl
		Finnpipette F3 100-1000 µl
Säule:	OV-1701-CB	25 m
	Stationäre Phase:	86% Methyl- 7% cyanopropyl- 7% phenylsilikon

Parameter des Gaschromatographen:	Injektortemperatur	250 °C
	Detektortemperatur	250 °C
	Säulentemperatur	85 °C
	Carrier 1 He	0,5 bar
	Carrier 2 He	1,5 bar
	Wasserstoff	0,6 bar
	Druckluft	0,5 bar
	Split	1:30
	Einspritzmenge	0,03 µL

Chemikalien:	20 µL	4-Chloracetessigester
	20 µL	Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat
		i-Propanol
	1 mL	Produkt /i-Propanol 1:50 je Ansatz

Durchführung:

Die Durchführung ist analog zu 3-Hydroxybuttersäureethylester und wird deshalb nicht näher beschrieben

#### 4.1.8.2 Bestimmung der Enantiomerenüberschüsse

##### 3-Hydroxybuttersäureethylester

Geräte:	Gaschromatograph	Shimadzu, GC-14A
	Integrator	Shimadzu, C-R6A Chromatopac
	GC-Spritze	Hamilton 7000.5 KH 0,5 µL
	Kolbenhubpipetten	Thermo Scientific
		Finnpipette F3 10-100 µl
		Finnpipette F3 100-1000 µl
Multimagnetrührplatte	Variomag Multipoint HP 15	
Säule:	Cyclodex β I/P	50 m
	Stationäre Phase:	Permethyl-β-cyclodextrin
Parameter des Gaschromatographen:	Injektortemperatur	250 °C
	Detektortemperatur	250 °C
	Säulentemperatur	90 °C
	Carrier 1 He	0,5 bar
	Carrier 2 He	1,5 bar
	Wasserstoff	0,6 bar
	Druckluft	0,5 bar
	Split	1:30
Einspritzmenge	0,03 µL	
Chemikalien:	20 µL	(±)-3-Hydroxybuttersäureethylester
	20 µL	3-(S)-Hydroxybuttersäureethylester

	Dichlormethan
200 µL	N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoracetamid (MSTFA) je Derivatisierung
20 µL	Produkt in Dichlormethan 1:40

#### Durchführung:

Es werden am Gaschromatographen die erforderlichen Parameter eingestellt und auf eine stabile Basislinie am Integrator gewartet. Zur Bestimmung der Retentionszeiten wird jeweils eine Probe 3-(S)-Hydroxybuttersäureethylester und eine Probe (±)-3-Hydroxybuttersäureethylester mit Dichlormethan im Verhältnis 1:40 verdünnt und mit dem Gaschromatographen gemessen. Das Chromatogramm zeigt, dass die Säule keine Trennung erbringt. Eine Derivatisierung der Produkte ist unumgänglich.

#### Derivatisierung:

In die bereits vorbereiteten Proben werden jeweils 200 µL MSTFA und ein Rührfisch gegeben. Auf einer Magnetrührplatte werden die Proben für eine Stunde gerührt und anschließend erneut gaschromatographisch analysiert. Auf dem Chromatogramm ist das racemische Derivat angetrennt, aber nicht basisliniengetreunt. Eine Bestimmung der Enantiomerenüberschüsse ist somit nicht möglich.

#### 1-Phenylethanol

Geräte:	Gaschromatograph	Shimadzu, GC-14B
	Integrator	Shimadzu, C-R5A Chromatopac
	GC-Spritze	Hamilton 7000.5 KH 0,5 µL
	Kolbenhubpipetten	Thermo Scientific
		Finnpipette F3 10-100 µl
		Finnpipette F3 100-1000 µl
Säule:	Cyclodex β I/P	50 m
	Stationäre Phase:	Permethyl-β-cyclodextrin
Parameter des Gaschromatographen:	Injektortemperatur	250 °C
	Detektortemperatur	250 °C
	Säulentemperatur	130 °C

Carrier 1 He	0,5 bar
Carrier 2He	1,5 bar
Wasserstoff	0,6 bar
Druckluft	0,5 bar
Split	1:30
Einspritzmenge	0,03 µL

Chemikalien:	20 µL	1-(±)-Phenylethanol
		Dichlormethan
	20 µL	Produkt in Dichlormethan 1:40

#### Durchführung:

Es werden am Gaschromatographen die erforderlichen Parameter eingestellt und auf eine stabile Basislinie am Integrator gewartet. Zur Bestimmung der Retentionszeiten wird jeweils eine Probe 1-(±)-Phenylethanol und eine Probe 1-(R)-Phenylethanol mit Dichlormethan im Verhältnis 1:40 verdünnt und mit dem Gaschromatographen gemessen. Nach den Messungen sind die Retentionszeiten bekannt und die Proben der einzelnen Ansätze können nacheinander eingespritzt werden. Die erhaltenen Chromatogramme werden beschriftet, digitalisiert und ausgewertet.

#### Ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Geräte:	Gaschromatograph	Shimadzu, GC-14A
	Integrator	Shimadzu, C-R6A Chromatopac
	GC-Spritze	Hamilton 7000.5 KH 0,5 µL
	Kolbenhubpipetten	Thermo Scientific
		Finnpipette F3 10-100 µl
		Finnpipette F3 100-1000 µl
	Multimagnetrührplatte	Variomag Multipoint HP 15
Säule:	Cyclodex β I/P	50 m
	Stationäre Phase:	Permethyl-β-cyclodextrin
Parameter des Gaschromatographen:	Injektortemperatur	250 °C
	Detektortemperatur	250 °C
	Säulentemperatur	100 °C

Carrier 1 He	0,5 bar
Carrier 2 He	1,5 bar
Wasserstoff	0,6 bar
Druckluft	0,5 bar
Split	1:30
Einspritzmenge	0,03 µL

Chemikalien:	10 µL	Ethyl-(R)-4-chloro-3-hydroxybutyrat
	10 µL	Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat
		Dichlormethan
	200 µL	N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoracetamid (MSTFA) je Derivatisierung
	20 µL	Produkt in Dichlormethan 1:40

#### Durchführung:

Es werden am Gaschromatographen die erforderlichen Parameter eingestellt und auf das Einstellen einer stabilen Basislinie am Integrator gewartet. Zur Bestimmung der Retentionszeiten werden Ethyl-(R)-4-chloro-3-hydroxybutyrat und Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat gemischt und mit Dichlormethan 1:40 verdünnt. Anschließend mit dem Gaschromatographen gemessen. Das Chromatogramm zeigt, dass die Säule keine Trennung erbringt. Eine Derivatisierung der Produkte ist unumgänglich.

#### Derivatisierung:

In die bereits vorbereiteten Proben werden jeweils 200 µL MSTFA und ein Rührfisch gegeben. Auf einer Magnetrührplatte werden die Proben für eine Stunde gerührt und anschließend erneut gaschromatographisch analysiert. Auf dem Chromatogramm ist das racemische Derivat angetrennt, aber nicht basisliniengetreunt.

### 4.1.8.3 Bestimmung der spezifischen Drehwerte

Chemikalien: 0,1048 g 3-(R)-Hydroxybuttersäureethylester  
0,1069 g 3-(S)-Hydroxybuttersäureethylester  
Chloroform  
0,5019 g 1-(R)-Phenylethanol  
0,5038 g 1-(S)-Phenylethanol  
Methanol  
Ethyl-(R)-4-chloro-3-hydroxybutyrat  
Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Geräte und

Parameter: Polarimeter Krüss P3002RS  
Natriumdampfampe mit  $\lambda = 589,3$  nm  
Küvette mit  $d = 0,5$  dm  
Messkolben 10 mL  
Temperatur 22 °C

Durchführung:

Das Polarimeter wird auf Betriebstemperatur gebracht. In dieser Zeit werden die Proben eingewogen und verdünnt.

Die 3-Hydroxybuttersäureethylester werden in 10 mL-Messkolben abgewogen und mit Chloroform aufgefüllt. Die 1-Phenylethanole werden analog behandelt, jedoch werden diese in Methanol gelöst. Die Ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrat bedürfen keiner Probenvorbereitung. Sie werden in reiner Form gemessen.

Nach Einhalten der vorgeschriebenen Wartezeit des Polarimeters, werden die Proben nacheinander in die Küvette überführt und der Drehwinkel  $[\alpha]$  gemessen.

Aus dem gemessenen Drehwinkel, der Probenkonzentration und der Schichtdicke lässt sich der spezifische Drehwert  $[\alpha]_D^T$  berechnen.

## 5 Zusammenfassung

Die Kennwertermittlung von kontinuierlich betriebenen Festbettreaktoren zur enantioselektiven Reduktion von prochiralen Carbonylverbindungen zu chiralen Hydroxyverbindungen, sowie die Datenerfassung und Auswertung der verwendeten Katalysatoren, sind Ziel dieser Arbeit.

Dazu werden drei Substrate in den Festbettreaktoren zu ihren Hydroxyverbindungen umgesetzt und gaschromatographisch der Umsatz ermittelt. Um eine Aussage über die Leistungsfähigkeit der Reaktoren mit ihren Katalysatoren treffen zu können, werden die Reaktionsbedingungen, wie Konzentration und Volumenstrom des Edukts verändert und die analytischen Daten ausgewertet.

Im Verlauf dieser Arbeit hat sich herausgestellt, dass die Kennwertermittlung arbeits- und zeitaufwendiger ist, als erwartet und ein Vielfaches von Ansätzen mit gleichen Reaktionsbedingungen für ein statistisch aussagekräftiges Ergebnis nötig ist.

Es lässt sich zusammenfassend sagen, dass diese Arbeit viele Daten liefert und klare Tendenzen aufführt. Da die Ergebnisse statistisch nicht gestützt werden, liegt es nahe, dieses Projekt als Grundlage für weiterführende Arbeiten zu nutzen. Im kontinuierlich betriebenen Festbettreaktor liegt ein hohes Potential und bietet für die Zukunft ein ökologisch wie ökonomisch interessantes Thema.



## 6 Anhang

### 6.1 Materialien

#### 6.1.1 Geräte

Geräte	Hersteller	Modell
Gaschromatograph	Shimadzu	GC-14A
Integrator	Shimadzu	C-R5A Chromatopac
Gaschromatograph	Shimadzu	GC-14B
Integrator	Shimadzu	C-R6A Chromatopac
GC- Spritze	Hamilton	7000.5 KH 0,5 $\mu$ L
Polarimeter	Krüß	P3002RS
Rotationsverdampfer	Büchi	Büchi Rotavapor R-3
Schlauchpumpe	Bio- Rad	Econo Pump
Schlauchpumpe	Gilson	Minipuls 2
Vakuum-Membranpumpe	Vacuubrand	MD 4C 3,0 m <sup>3</sup> /h
Membran-Vakuumpumpe	Vacuubrand	MZ 2C 1,7 m <sup>3</sup> /h
Analysenwaage	Sartorius	BP 221 S
Präzisionswaage	Acculab	ALC
Luftpolsterkolbenhubpipette	Thermo Scientific	Finnpipette F3 100-1000 $\mu$ l
Luftpolsterkolbenhubpipette	Thermo Scientific	Finnpipette F3 10-100 $\mu$ l

#### 6.1.2 Chemikalien

##### 6.1.2.1 Eingesetzte Edukte und Vergleichskemikalien

Substanz	Hersteller	Reinheit
Acetophenon	Fluka	$\geq 99,0$ %
( $\pm$ )-1-Phenylethanol	Fluka	$\geq 96,0$ %
Acetessigester	Fluka	$\geq 99,0$ %

(+)-3-Hydroxybuttersäureethylester	ACROS Organics	99 %
(S)-3-Hydroxybuttersäureethylester	ACROS Organics	99 %
4-Chloracetessigester	Alfa Aesar	97 %
Ethyl-(S)-(-)-4-chloro-3-hydroxybutyrat	Alfa Aesar	98 %
Ethyl-(R)-(+)-4-chloro-3-hydroxybutyrat	Alfa Aesar	97 %
Superabsorber Favor®	Evonik	
Alkoholdehydrogenase 005 Thermoanaerobicum sp.	Jülich Chiral Solutions	
Alkoholdehydrogenase 002 lactobacillus brevis	Jülich Chiral Solutions	
NADP	Codexis	
MSTFA	CS-Chromatographie Service GmbH	

*Tabelle 23: Chemikalienverzeichnis*

### 6.1.2.2 Verbrauchskemikalien

i-Propanol 100,0% AnalaR NORMAPUR

tert.- Butylmethylether

Natriumsulfat wasserfrei

VE-Wasser

## 6.2 Verzeichnisse

### 6.2.1 Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Chiralität von 2-Butanol

Abbildung 2: Thalidomid als Beispiel für unterschiedliche Eigenschaften von Enantiomeren

Abbildung 3: Chirale Flüssigkeitschromatographie

Abbildung 4: Rhodium(1,5-cyclooctadien)(-)-DIOP tetrafluoroborat [13] verändert durch Stephan Maintz

Abbildung 5:(S)-BINAL-H [13] verändert durch Stephan Maintz

Abbildung 6: Schematische Darstellung der Dreipunktwechselwirkung [5] verändert durch Stephan Maintz

Abbildung 7: Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat

Abbildung 8: Redox- Reaktion des NADP

Abbildung 9: Reaktionsschema der Ketonreduktion mit Alkoholdehydrogenase

Abbildung 10: Regeneration des Cofaktors mit i-Propanol [5] verändert durch Stephan Maintz

Abbildung 11: Konzentrationsverhalten eines CSTR

Abbildung 12: Schematische Darstellung der Pfropfenströmung

Abbildung 13: Konzentrationsverhalten eines PFR

Abbildung 14: Konzentrationsverhalten einer Rührkesselkaskade [3] verändert durch Stephan Maintz

Abbildung 15: Festbettreaktoren (Säulenreaktoren)

Abbildung 16: Festbettreaktoren (Schlauchreaktoren)

Abbildung 17: Reaktion von Acetessigester

Abbildung 18: Reaktion von Acetophenon

Abbildung 19: Reaktion von 4-Chloracetessigester

Abbildung 20: Umsetzung von Keton zu Oxim

Abbildung 21: Beispielchromatogramm von 1-(R)-Phenylethanol

Abbildung 22: Beispielchromatogramm von Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Abbildung 23: Beispielchromatogramm von 3-(S)-Hydroxybuttersäureethylester

Abbildung 24: Retentionszeit von 1-Phenylethanol

Abbildung 25: Reaktionsschema der Derivatisierung

Abbildung 26: Chromatogramm 1-(R)-Phenylethanol

Abbildung 27: Chromatogramm 1-(S)-Phenylethanol

## 6.2.2 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Auswaagen Chiralidon

Tabelle 2: Wassergehalt von Chiralidon R

Tabelle 3: Wassergehalt von Chiralidon S

Tabelle 4: Ausbeutebestimmung der Substratumsetzungen

Tabelle 5: Ergebnisse 3-(R)-Hydroxybuttersäureethylester

Tabelle 6: Ergebnisse 3-(S)-Hydroxybuttersäureethylester

Tabelle 7: Ergebnisse von 1-(R)-Phenylethanol

Tabelle 8: Ergebnisse von 1(S)-Phenylethanol

Tabelle 9: Bestimmung der Zykluszahl; Ethyl-(R)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Tabelle 10: Bestimmung der Zykluszahl; Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Tabelle 11: Ergebnisse Zykluszahl

Tabelle 12: Ergebnisse Katalysator-Verbrauch

Tabelle 13: Umsatz/Zeit und Konzentration; Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Tabelle 14: Umsatz/Zeit und Konzentration; Ethyl-(R)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Tabelle 15: Schleifenansatz; Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Tabelle 16: Schleifenansatz; Ethyl-(R)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Tabelle 17: Aktivitätsbestimmung

Tabelle 18: Ergebnisse Enantiomerenüberschuss

Tabelle 19: Ergebnisse Spezifischer Drehwert

Tabelle 20: Reaktorgeometrie; Säulenreaktor

Tabelle 21: Reaktorgeometrie; Schlauchreaktor

Tabelle 22: Zeitliche Probenentnahme

Tabelle 23: Chemikalienverzeichnis

## 6.2.3 Diagrammverzeichnis

Diagramm 1: Umsatz/Konzentration 1

Diagramm 2: Raum-Zeit-Ausbeute/Konzentration 1-Phenylethanol

Diagramm 3: Umsatz/Verweilzeit 1-Phenylethanol

Diagramm 4: Raum-Zeit-Ausbeute/Verweilzeit 1-Phenylethanol

Diagramm 5: Reaktorgeometrie

Diagramm 6: Zykluszahlbestimmung

Diagramm 7: Umsatz/Zeit; Ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Diagramm 8: Raum-Zeit-Ausbeute/Zeit; Ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Diagramm 9: Umsatz/Konzentration; Ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Diagramm 10: Raum-Zeit-Ausbeute/Konzentration; Ethyl-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Diagramm 11: Umsatz/Zeit; Schleifenansatz

Diagramm 12: Schleifenansatz Raum-Zeit-Ausbeute;

Ethyl-(S)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

Diagramm 13: Schleifenansatz Raum-Zeit-Ausbeute;

Ethyl-(R)-4-chloro-3-hydroxybutyrat

#### 6.2.4 Literaturverzeichnis

- [1] Buchholz, Klaus; Kasche Volker. Biokatalysatoren und Enzymtechnologie  
1. Auflage  
1997 VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim
- [2] Hagen, Jens. Chemiereaktoren Auslegung und Simulation 1. Auflage  
2004 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim
- [3] Hertwig, Klaus; Martens, Lothar. Chemische Verfahrenstechnik Berechnung,  
Auslegung und Betrieb chemischer Reaktoren 2. Auflage  
2012 Oldenbourg Wissenschaftsverlag GmbH München
- [4] Uhlig, Helmut. Enzyme arbeiten für uns: technische Enzyme und ihre  
Anwendungen 1. Auflage  
1991 Carl Hanser Verlag München Wien
- [5] Theil, Fritz. Enzyme der organischen Synthese 1. Auflage  
1997 Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg
- [6] Jeromin, Günter Erich. Superabsorbed alcohol dehydrogenase- a new catalyst for  
asymmetric reductions  
Biotechnol Lett. 2009, Bde. 31: 1717-1721

- [7] Chmiel, Horst (Hsrg.). Bioprozesstechnik 3. Auflage  
2011 Spektrum Akademischer Verlag GmbH Heidelberg
- [8] Liese, Andreas et al.. Industrial Biotransformation 2. Auflage  
2006 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim
- [9] Cayoglu, Cagla. Chiralidon R, ein all inclusive Katalysator für die  
enantioselektive Reduktion von prochiralen Carbonylverbindungen zu chiralen  
Hydroxyverbindungen  
2011 Fachhochschule Aachen, Campus Jülich
- [10] Chemikalien- Katalog Aldrich-Chemicals 2009-2010
- [11] Nelson, David L. und Cox, Michael M. Lehninger Biochemie 4. Auflage  
2009 Springer- Verlag, Berlin Heidelberg
- [12] Jeromin, Günter Erich und Bertau, Martin. Bioorganikum 1. Auflage  
2005 WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim
- [13] Nógrádi, Mihály. Stereoselective synthesis 1. Auflage  
1986 VCH Verlagsgesellschaft mbH Weinheim

### 6.2.5 Abkürzungsverzeichnis

d.h.	das heißt
Abb.	Abbildung
s. Abb.	siehe Abbildung
t-BME	tertiär- Butylmethylether
MSTFA	N-Methyl-N-trimethylsilyltrifluoracetamid
NADP	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
ADH	Alkoholdehydrogenase
CSTR	kontinuierlich betriebener Rührkessel
PFR	Ideales Strömungsrohr