

# Katalytische und enzymatische Trennung kleiner chiraler Moleküle

**Die Synthese und die spektroskopische Analyse chiraler Moleküle sind in der Chemie und auch in der Pharmazie von grosser Bedeutung. Kleine chirale Moleküle sind für das detaillierte Verständnis der hochauflösenden Infrarotspektroskopie wichtig, weil diese z.B. einen geeigneten Dampfdruck besitzen, um sie praktisch wechselwirkungsfrei in der Gasphase zu untersuchen. Bis anhin wurden nur etwa ein Dutzend chirale Verbindungen in der Gasphase spektroskopisch hochaufgelöst untersucht. Mit spektroskopischen und computergestützten Methoden leisten wir mit unserer Arbeit einen Beitrag zum Verständnis der molekularen Chiralität. Hierzu haben wir die enzymatische, stereoselektive Veresterung von 1,1-Bromchloroessigsäure durch Lipase bei verschiedenen Bedingungen untersucht. Des Weiteren haben wir 2-Chloroxiran synthetisiert, welches für weitere Untersuchungen, wie z.B. die katalytische Racematspaltung durch Salenkatalysatoren, als Modellsubstanz dienen kann.**

Autoren: Fabian Deuber und Jürgen Stohner

Die Symmetrie von chemischen Verbindungen beschäftigte schon die Chemiker vergangener Jahrhunderte. Louis Pasteur (1822–1895), welcher als Begründer der Stereochemie [1] gilt, äusserte sich folgendermassen zum Vorkommen verschiedener optisch aktiver Konfigurationen derselben Substanz in der Natur:

—————  
*L'univers est un  
 ensemble  
 dissymétrique [...]*  
 —————

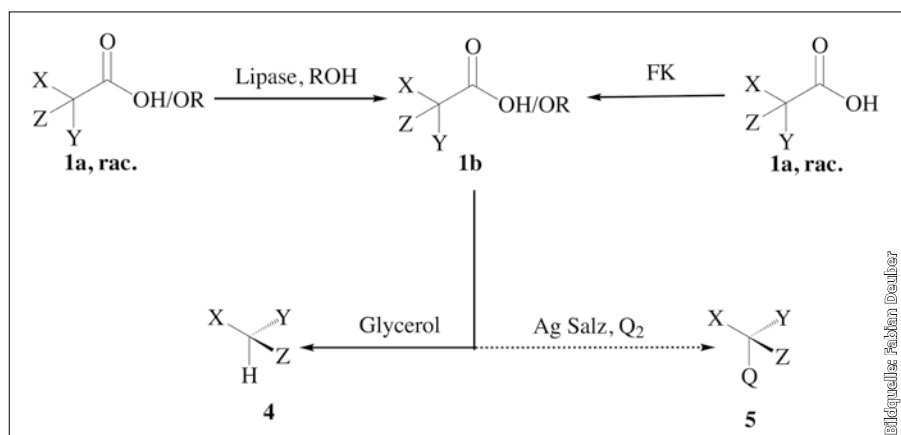
Man kann davon ausgehen, dass in der Natur weitaus mehr chirale als achirale Verbindungen existieren. Daher ist es nicht sonderlich erstaunlich, dass chirale Moleküle in vielen Bereichen der Chemie, der Pharmazie und der Medizin von Bedeutung sind.

## Theoretischer Hintergrund

Ausgehend von quantenchemischen Berechnungen, die auf dem Standardmodell der Teilchenphysik beruhen, wird angenommen, dass ein isoliertes chirales Molekül nicht exakt dieselbe Energie besitzt wie sein Enantiomer. Dieser Energieunterschied, welcher durch die sogenannte Paritätsverletzung (PV) verursacht wird, wurde 1956/57 im Atom und später in zweiatomigen Molekülen im äusseren B-Feld experimentell nachgewiesen. Der sehr kleine Energieunterschied bei mehratomigen chiralen Molekülen wurde bisher lediglich durch *ab initio*-Berechnungen vorausgesagt und bis heute fehlt der experimentelle Nachweis (Quack, Stohner [2]). Der Energieunterschied  $\Delta_{\text{PV}} E$  zwischen *R*- und *S*-Enantiomer kann als die Reaktionsenthalpie  $\Delta_{\text{R}} H^{\circ}$  der Racemisierung  $\Delta_{\text{R}} H^{\circ} \approx \Delta_{\text{PV}} E \cdot N_{\text{A}}$  interpretiert werden [2]. Nebst der Herausforderung, diesen kleinen Energieunterschied mit geeigneten, hochauflösenden spektroskopischen Methoden nachzuweisen, liegt eine weitere Schwierigkeit bei der Wahl eines geeigneten Moleküls. Bromchlorfluormethan oder ande-

re Heterohalomethane spielen hierbei eine zentrale Rolle, da diese kleinen chiralen Moleküle schwere Substituenten und somit eine relativ «grosse» paritätsverletzende Energiedifferenz besitzen. Vier Meilensteine sind für den experimentellen Nachweis der molekularen Paritätsverletzung relevant: (1) Synthese geeigneter kleiner chiraler Moleküle, die einen hohen  $\Delta_{\text{PV}} E$ -Wert erwarten lassen; (2) Enantiomerentrennung, falls die Synthese nicht schon enantioselektiv durchgeführt werden kann; (3) Messung von ultrahochaufgelösten IR-Schwingungsrotationspektren und die Zuordnung der beobachteten Übergänge; (4) Bestimmung der absoluten Konfiguration mittels *ab initio*-Rechnungen und Messungen des Schwingungscirculardichroismus (VCD).

Um die kleinen chiralen Moleküle enantiomerenrein herzustellen, werden gegenwärtig die Enantiomere einer Halogencarbonsäure (z.B. Bromchlorfluoroessigsäure) durch fraktionelle Kristallisation voneinander getrennt ([3], siehe Meilenstein (2)). Das so angereicherte Enantiomer kann anschliessend durch Decarboxylieren in das gewünschte Halomethanderivat überführt werden. *Crassous et al.* [3] konnten durch mehrmaliges Kristallisieren einen ee-Wert von 30% bis 60% erreichen. Um die langwierige und aufwändige Enantiomerentrennung der Carbonsäure zu umgehen, wurde von uns eine enantioselektive Veresterung durch Lipase vorgeschlagen (siehe Abb. 1) [4]. Lipase wandelt Carbonsäuren und Alkohole in ihren entsprechenden Ester um. Falls chirale Säuren oder Alkohole verwendet werden, erfolgt die Veresterung mit hoher Sereoselektivität.



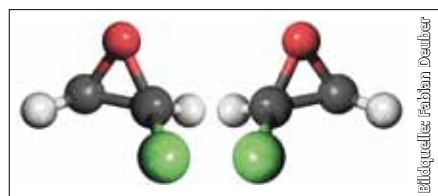
Bildquelle: Fabian Deuber

Abb. 1: Verschiedene Möglichkeiten, racemische Halogensäuren **1a** zu trennen. Die in dieser Arbeit vorgeschlagene Methode, chirale Carbonsäuren mittels Lipase stereoselektiv zu verestern (Schritt **1a** → **1b**), wurde analog zu Kirchner et al. [5] durchgeführt.

Bemerkenswert ist zudem, dass Lipase ihre katalytische Fähigkeit auch in organischem Lösemittel nicht zu verlieren scheint.

## Resultat

Ausgehend von den Ergebnissen von Kirchner et al. [5], welche die Enantiomere von verschiedenen Monohalogen-carbonsäuren durch Lipase getrennt haben, wurde das in der Literatur beschriebene Vorgehen für die enantioselektive Veresterung für Bromchloroessigsäure adaptiert. Die Vorschrift wurde für 2-Chlorpropionsäure verifiziert und die Literaturwerte (Ausbeute von 74% und ee > 94%) konnten sehr gut reproduziert werden. Die enantioselektive Veresterung von Bromchloroessigsäure durch Lipase führt jedoch gegenwärtig noch zu keiner merklichen Enantiomeren-trennung.



Bildquelle: Fabian Deuber

Abb. 2: Struktur von (S)-2-Chloroxiran (links) und (R)-2-Chloroxiran (rechts).

Es wurde ferner 2-Chloroxiran (siehe Abb. 2) als weiteres kleines, chirales Molekül hergestellt, welches als Modelverbindung für eine katalytische Enantiomeren-trennung durch Salenkatalysatoren dienen soll. Das IR-Spektrum von 2-Chloroxiran in der Gasphase zeigt sehr gute Übereinstimmungen mit den *ab initio*-Berechnungen.

## Ausblick

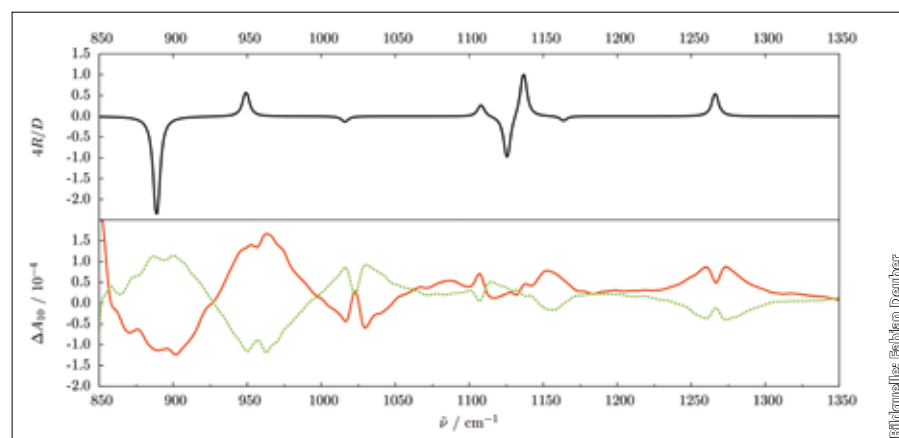
Falls man chirale Alkohole für die Veresterung verwendet, ist es denkbar, die entstehenden Diastereoisomere gegebenenfalls auf

herkömmliche Art und Weise (das heisst ohne chirale Säulen zu verwenden) zu trennen. Die so erhaltenen Carbonsäurederivate können anschliessend in Glycerol unter Retention der Konfiguration decarboxyliert werden. Es gilt, 2-Chloroxiran in ausreichender Menge zu synthetisieren und durch Salenkatalysatoren enantioselektiv zu trennen. Anschliessend kann die Messung eines VCD-Spektrums (siehe Abb. 3) vorgenommen und so die absolute Konfiguration bestimmt werden.

## Quellenverzeichnis

- [1] L. Pasteur, *Observations sur les forces dissymetriques*. C. R. Séances Acad. Sci. **26**, 538 (1848)
- [2] M. Quack and J. Stohner. *Parity violation in chiral molecules*. CHIMIA, **59**, 530 (2005), und Ref. darin.
- [3] J. Crassous, Z. Jiang, V. Schurig, and P. L. Polavarapu. *Preparation of (+)-chlorofluoroiodomethane, determination of its enantiomeric excess and of its absolute configuration*. *Tetrahedron: Asymmetry*, **15**, 1995 (2004).
- [4] F. Deuber. *Katalytische und enzymatische Trennung kleiner chiraler Moleküle*, Bachelor-Arbeit, ZHAW (2012)

Fortsetzung auf Seite 15



Bildquelle: Fabian Deuber

Abb. 3: Beispiel einer Bestimmung der absoluten Konfiguration anhand von Propylenoxid. Unten: Experimentelle VCD-Messungen von (R)-Propylenoxid (grün, gestrichelt) und (S)-Propylenoxid (rot, durchgezogen). Oben: *ab initio*-Rechnungen von (S)-Propylenoxid.

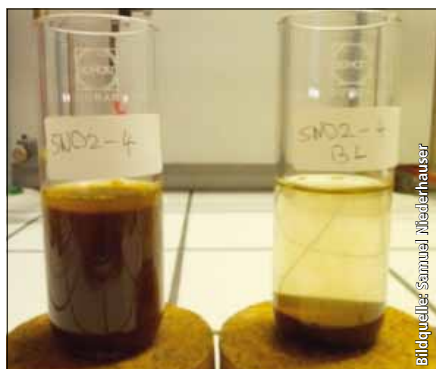


Abb. 2: Erhöhte kolloidale Stabilität der funktionalisierten Nanopartikel (links)

Dank der Verwendung zweier verschiedener Funktionalisierungen der Nanopartikel konnte in dieser Arbeit unter anderem untersucht werden, welche Liganden sich besser für die spätere Aufgabe als Nanoplatzform für Katalysatoren eignen.

Das entscheidende Kriterium für die Eignung sind dabei die kolloidalen Eigenschaften der Nanopartikel im Lösungsmittel für die Katalysatorherstellung.

Partikel mit Brom-Endungen zeigten bis zu 10-fach kleinere Agglomerationen in Acetonitril als die entsprechenden Nanopartikel mit OH-Endung (DLS-Messungen in Acetonitril). Dies erhöht ihre spezifische Oberfläche in einer späteren Reaktionsmischung und macht sie dadurch geeigneter für die Katalysator-Synthese.

Die oben gezeigten höheren Funktionalisierungsgrade der Brom-Endungen sind ein weiteres Eignungskriterium, das für die Verwendung dieser Liganden spricht.

### Schlussfolgerung

Dank der Variation einiger Syntheseparameter (NaOH-Zugabe, Rührinheit) im Verlauf der Arbeit konnten zudem die entscheidenden Einflüsse auf die Morphologie der Nanopartikel, namentlich für

sphärische und stäbchenförmige NPs, definiert werden; bei direkter Zugabe der Base sowie magnetischer Rührung konnten sphärische Nanopartikel mit hohem Funktionalisierungsgrad hergestellt werden, welche sich im besonderen Masse als Nanoplatzform eignen.



Samuel Niederhauser

**\*Samuel Niederhauser** absolvierte nach der regulären Schulzeit eine Lehre als Chemielaborant an der Universität Bern mit anschließender technischer Berufsmaturität. Danach arbeitete er in diversen Anstellungen als Chemielaborant, zuletzt vor und während des Chemie-Studiums in der Nitrochemie in Wimmis. Für das Chemie-Studium an der Fachhochschule Fribourg hat er sich einerseits aufgrund der positiven Erfahrungen seines Bruders (Christoph Niederhauser, SVC-Preis 2008) sowie der Möglichkeit, das Studium in einer Fremdsprache zu absolvieren, entschieden. Aktuell arbeitet er an der Fachhochschule Fribourg im Netzwerk Nanotechnologie, wo er für die Intensivierung von Kundenkontakten sowie Machbarkeitsstudien zuständig ist. Parallel dazu arbeitet er im Bereich Nanocat, der

Fortsetzung von Seite 13

### Quellenverzeichnis

[5] G. Kirchner, M.P. Scollar, and A.M. Klibanov. Resolution of racemic mixtures via lipase catalysis in organic solvents. *J. Am. Chem. Soc.*, 107, 7072 (1985).

### Korrespondenzautor:

Prof. Dr. Jürgen Stohner FRSC, Leiter Fachgruppe Physikalische Chemie, Leiter Studiengang Master Life Sciences, Vertiefung «Chemistry for the Life Sciences», ZHAW Zürcher Hochschule für Angewandte Wissenschaften, E-Mail: juergen.stohner@zhaw.ch



Fabian Deuber

**\*Fabian Deuber**, geboren 1990, hat seine Lehre als Chemielaborant 2009 bei Novartis Pharma AG abgeschlossen. An der ZHAW studierte er von 2009 bis 2012 Chemie mit dem Abschluss Bachelor of Science ZFH in Chemistry. Seine Diplomarbeit hat er in der Fachgruppe Physikalische Chemie bei Prof. Dr. Jürgen Stohner durchgeführt. Seit August 2012 arbeitet er als wissenschaftlicher Assistent in der Physikalischen Chemie an der ZHAW in Wädenswil.