

Mathematisch-Naturwissenschaftliche Fakultät

Institut für Chemie

Fachgebiet: Biokatalyse

Betreuer: Prof. Dr. Jan von Langermann

M.Sc. Jan Eric Neuburger

(e-mail: jan.neuburger@netcologne.de)

Integrierte Ansätze in Transaminase-katalysierten Reaktionen und dessen Downstream-Processing. Integrated approaches in transaminase catalyzed reactions and their downstream processing.

Diese Arbeit befasst sich mit der Entwicklung und Anwendung einer nicht-katalytischen Verschiebung des Reaktionsgleichgewichtes während einer biokatalytischen Reaktion. Der Ausgangspunkt hierbei war eine Transaminasen-katalysierte Reaktion mit einer schlechten Gleichgewichtslage für die Bildung des gewünschten Amins, die es zu verändern galt. Mittels einer Carbonsäure und der Veränderung der Druckverhältnisse konnte das Produktamin während der Reaktion auskristallisiert werden, wodurch sich ein neues für diese Reaktion günstigeres Reaktionsgleichgewicht ausbildete. Durch das Einsetzen eines Salzes mit geringer Löslichkeit, welches aus der Carbonsäure und dem Donoramin Isopropylamin bestand, war es möglich, die Konzentration des Donoramins über längere Zeit konstant zu halten. Da die Carbonsäure gleichzeitig mit dem Produktamin ein schwerlösliches Salz bildet und damit der Reaktionslösung entzieht, ist es im Gegensatz zu klassischen Transaminasenreaktionen möglich, das Donoramin in stöchiometrischen Mengen einzusetzen. Dieses Konzept wurde durch verschiedene Optimierungsschritte soweit hochskaliert, dass Konzentrationen von größer 1 mol/L durch Akkumulation des Produktes erreicht werden können.

Des Weiteren wurde ein Konzept zur Wiedergewinnung von den eingesetzten, aber nicht verbrauchten Verbindungen erarbeitet. Hierbei wurde sich auf die eingesetzte Carbonsäure und phosphathaltige Cofaktor wie Pyridoxalphosphat konzentriert. Nach Erarbeiten eines Konzeptes zum Fällen, Abtrennen und

Wiederauflösen des Pyridoxalphosphats wurde dieses erfolgreich auch auf andere Cofaktoren übertragen.

This PhD thesis deals with the development and application of a non-catalytic shift of the reaction equilibrium during a biocatalytic reaction. The initial premise was a commercially available transaminase and a poor equilibrium of the catalyzed reactions, which had to be overcome. This was achieved by using reactive crystallization with a carboxylic acid and the change of the pressure conditions, which resulted in a new more favorable reaction equilibrium. The salt contained the carboxylic acid and the amine donor needed for the reaction. By slowly dissolving the salt, the concentration of the donor amine was kept constant over a longer period of time. Because the carboxylic acid forms a sparsely soluble salt with the product amine, which thus removed the product amine from the solution, it is possible to use the donor amine in stoichiometric amounts, in contrast to classical transaminase reaction concepts. This concept was improved by various optimization steps to such an extent that product concentrations of greater than 1 mol/L could be achieved by accumulation of the product.

Furthermore, a concept for the recovery of the remaining and not consumed compounds was developed. The focus was on the carboxylic acid and phosphate-containing cofactors such as pyridoxal phosphate (PLP). After developing a concept for precipitating, separating and redissolving the PLP, this was successfully applied on other cofactors.