

- [3] Vgl. z. B. B. J. Wakefield: The Chemistry of Organolithium Compounds. Pergamon, Oxford 1974. Bei Alkyliodiden führt die Einwirkung von Lithium zur Kupplung.
 [4] Der Austausch gegen ein Cl-Atom ist noch nicht gelungen.
 [5] M. Sevrin, W. Dumont, L. Hevesi, A. Krieg, Tetrahedron Lett. 1976, 2647, erreichten bei prim-Alkyl(phenyl)seleniden ca. 20 % C₆H₅Se/Br-Austausch.

Bindung von Urease an eloxierte Aluminiumbleche

Von Peter Grunwald, Walter Gunßer und Siegfried Scheer^[*]

Die Fixierung von Proteinen an wasserunlöslichen Materialien ist zu einem wichtigen, viele Bereiche der Chemie und deren Nachbardisziplinen berührenden Arbeitsgebiet geworden^[1]. In der Anwendung gibt man häufig anorganischen Trägern den Vorzug, da sie mikrobiell praktisch nicht abgebaut werden. Die Bindung eines Enzyms an den Träger kann kovalenter oder adsorptiver Natur sein und führt in der Regel zu Aktivitätsverlusten. Kriterien für die Güte eines solchen Präparates sind neben der Restaktivität vor allem seine Wiederverwendbarkeit und die thermische Stabilität.

Bei Versuchen zur Adsorption von Proteinen an inerten Metallociden fanden wir am Beispiel des Enzyms Urease, daß sich eloxierte Aluminiumbleche für diesen Zweck sehr gut eignen.

Abbildung 1 gibt die Abhängigkeit der Enzymaktivität von den Eloxierbedingungen wieder. Während unter den üblichen Bedingungen des bekannten G-S-Verfahrens (schraffierter Bereich) die Umsatzgeschwindigkeit noch relativ gering ist, steigt die Aktivität des Adsorbats nach Überschreiten einer bestimmten Schwefelsäurekonzentration (Stromdichte) um beinahe zwei Zehnerpotenzen an. Rasterelektronenmikroskopische Aufnahmen (Abb. 2) zeigen die Oberfläche eines Al-Blechs vor und nach der Belegung mit Urease. Die Strukturierung der Aluminiumhydroxidoberfläche läßt die Textur der verwendeten Bleche erkennen.

Bemerkenswert ist die aus Abbildung 3 ersichtliche thermische Beständigkeit der adsorptiv auf diesen Eloxalschichten fixierten Urease im Vergleich zum frei in Lösung befindlichen

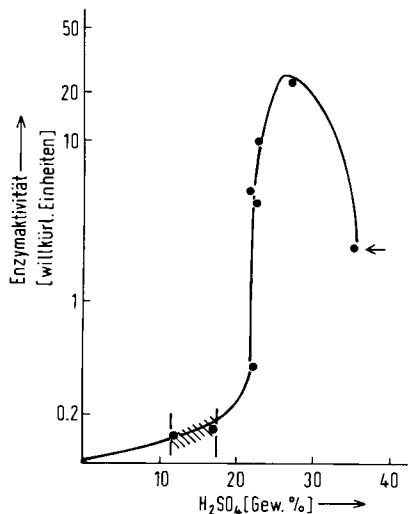


Abb. 1. Aktivität von mit Urease belegten eloxierten Al-Blechen als Funktion der Schwefelsäurekonzentration; die Aktivitäten wurden konduktometrisch ermittelt.

[*] Dr. P. Grunwald [+], Prof. Dr. W. Gunßer, cand. HL S. Scheer
 Institut für Physikalische Chemie der Universität
 Laufgraben 24, D-2000 Hamburg 13

[+] Korrespondenzautor.

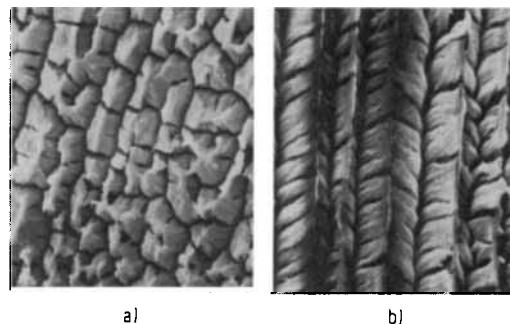


Abb. 2. REM-Bild (2000fache Vergrößerung) einer Eloxalschicht a) vor und b) nach der Belegung mit Urease aus dem Bereich jenseits des Aktivitätsoptimums (Pfeil in Abb. 1).

Enzym, dessen Temperaturoptimum bei ca. 65 °C liegt. Spezifische Merkmale des Temperaturverhaltens von Urease bleiben beim Adsorbat offenbar erhalten, z. B. der von Talsky beschriebene^[2a] anomale Verlauf der ureasekatalysierten Harnstoffhydrolyse sowie unterschiedliche Aktivierungsenergien innerhalb verschiedener Temperaturbereiche [$50.8 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ (5–20 °C), $24 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ (20–41 °C), $45.1 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ (41–96 °C)]. Für die Harnstoffhydrolyse in Gegenwart von gelöster Urease betragen die Aktivierungsenergien $49 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ (0–22 °C)^[3] und $36.5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ (20–40 °C)^[2b]; beide Werte konnten wir für das von uns zur Adsorption verwendete Enzym mit $49 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ (0–21 °C) und $36.5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ (20.5–50 °C) bestätigen. Gegenüber dem freien Enzym hat danach das Adsorbat im mittleren Temperaturintervall eine deutlich niedrigere Aktivierungsenergie.

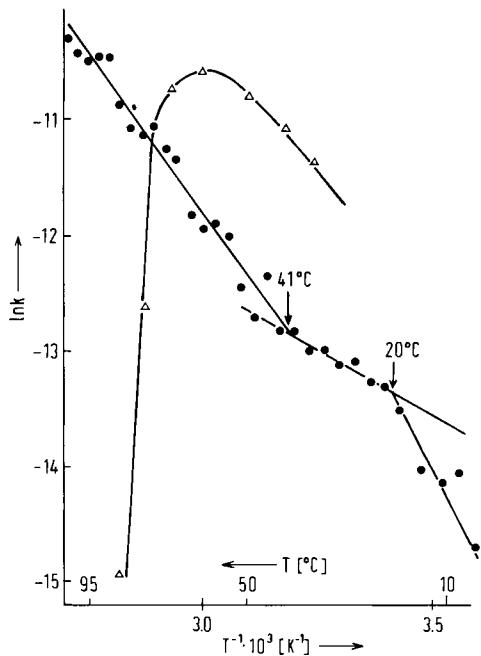


Abb. 3. Temperaturabhängigkeit der Harnstoffhydrolyse für gelöste —△—△—△— und auf eloxiertem Aluminium adsorbierte —●—●—●— Urease.

Die Temperaturabhängigkeit der Harnstoffhydrolyse wurde über den gesamten Bereich von 2 bis 98 °C (30 Messungen) am gleichen Präparat bestimmt, was die Wiederverwendbarkeit dieses trägegebundenen Enzyms hinreichend demonstriert. Bei nicht zu hohem Ureaseangebot zeigt das adsorbierte Enzym eine gegenüber dem freien Zustand erhöhte Aktivität. Ein Vergleich mit den herkömmlichen anorganischen Träger-

materialien^[4] ergibt, daß eloxierte Al-Bleche die anfangs erwähnten Kriterien gut erfüllen.

Eingegangen am 22. Juli 1977 [Z 807]

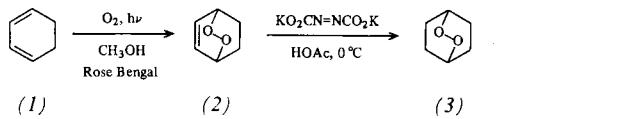
CAS-Registry-Nummern:
Urease: 9002-13-5 / Al: 7429-90-5.

- [1] H. D. Orth, W. Brümmer, Angew. Chem. 84, 319 (1972); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 11, 249 (1972); vgl. auch Nachr. Chem. Tech. 21, 236 (1973).
 - [2] a) G. Talsky, Angew. Chem. 83, 553 (1971); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 10, 548 (1971); b) G. Talsky, W. Klunker, Z. Physiol. Chem. 348, 1372 (1967).
 - [3] I. W. Sizer, J. Bacteriol. 41, 511 (1941).
 - [4] H. H. Weetall, R. A. Messing in M. L. Hair: The Chemistry of Biosurfaces, Vol. 2. Dekker, New York 1972, S. 563ff.

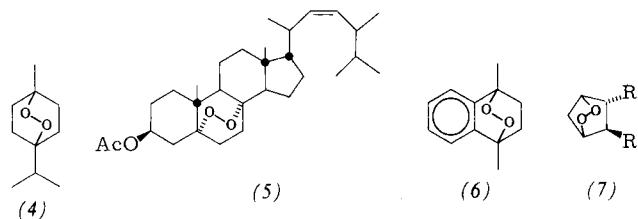
2,3-Dioxabicyclo[2.2.2]octan durch selektive Reduktion von Doppelbindungen mit Azodicarboxylat^[]**

Von Waldemar Adam und Henny J. Egglete^[*]

Die Peroxidbindung gehört zu den Bindungen, die gegenüber reduktiver Spaltung am empfindlichsten sind. Es überrascht daher nicht, daß bei der katalytischen Hydrierung ungesättigter Peroxide sowohl die Peroxidbindung als auch die Doppelbindung reduziert werden. Wir fanden jetzt, daß das Problem der gleichzeitigen Reduktion der beiden Bindungen umgangen werden kann. Durch Oxidation von cyclischen 1,3-Dienen mit Singulett-Sauerstoff^[1] ist eine Fülle von ungesättigten cyclischen Peroxiden zugänglich, die mit Azodicarboxylat zu neuen gesättigten cyclischen Peroxiden reduziert werden können. Azodicarboxylat hat sich als mildes, spezifisches Reduktionsmittel für Doppelbindungen bewährt^[2]. Ein Beispiel für diese neue Strategie ist die zweistufige Umwandlung von 1,3-Cyclohexadien (1) in das bisher unbekannte 2,3-Dioxabi-cyclo[2.2.2]octan (3).



Wir behandelten das ungesättigte cyclische Peroxid (2), das seinerseits durch Photo-Oxygenierung von (1) erhalten worden war^[3], mit überschüssigem Azodicarboxylat in Methanol bei 0°C^[4]. Dabei entstand das gesättigte cyclische Peroxid (3) in 48 % Ausbeute (Fp = 117–118°C aus Hexan)^[5]. Das Peroxid (3) ließ sich mit ethanolischer Kalilauge in hoher Ausbeute zum bekannten 4-Hydroxycyclohexanon isomerisieren und mit H₂/Pd-C quantitativ zum ebenfalls bekannten



[*] Prof. Dr. W. Adam (NIH Career Development Awardee, 1975–1980),
Dr. H. J. Eggelte
University of Puerto Rico
Rio Piedras, Puerto Rico 00931 (USA)

[**] Cycliche Peroxide, 58. Mitteilung. Diese Arbeit wurde vom Petroleum Research Fund (Grant 8341-AC-1,4) der American Chemical Society, von der National Science Foundation (Grant CHE-72-04956-A03) und den National Institutes of Health unterstützt (Grants GM 22119.02, GM-00141-02 und RR-8102-03). – 57. Mitteilung: *W. Adam* et al., noch unveröffentlicht.

cis-1,4-Cyclohexandiol reduzieren. Es sei ausdrücklich darauf hingewiesen, daß Azodicarboxylat reines (3) unter den obengenannten Bedingungen nicht in dieses Diol überführt.

Die allgemeine Anwendbarkeit der Reduktion mit Azodicarboxylat ließ sich durch Synthese von Dihydroascaridol (4), Epidioxyergosterinacetat (5) mit gesättigtem Ring B und 1,2,3,4-Tetrahydro-1,4-dimethyl-1,4-epidioxynaphthalin (6) zeigen. Die schon bekannte Verbindung (4) wurde quantitativ aus Ascaridol erhalten und durch ihre NMR- und IR-Daten identifiziert. Ascaridol ist eines der wenigen cyclischen Peroxide, bei dem die katalytische Hydrierung die Peroxidbindung nicht angreift^[6]. Das Ergosterin-Derivat (5)^[7a] wurde jetzt erstmals synthetisiert. Sogar das instabile 1,4-Dihydro-1,4-dimethyl-1,4-epidioxynaphthalin, durch Photo-Oxygenierung von 1,4-Dimethylnaphthalin dargestellt^[8], konnte zum neuartigen cyclischen Peroxid (6)^[7b] reduziert werden. Die verbliebene Doppelbindung in (5) wurde übrigens trotz des Überschusses an Azodicarboxylat nicht reduziert. Gespannte Doppelbindungen scheinen gegenüber diesem Reagens anfälliger zu sein^[2].

Bei der Reduktion von Epidioxycyclopenten mit Azodicarboxylat konnten nur Isomerisierungsprodukte isoliert werden. Gut zugängliche Peroxide vom Typ (7) könnten die Prostaglandin-Synthese vereinfachen.

Allgemeine Arbeitsvorschrift

In einen 50-ml-Rundkolben mit magnetischem Rührer werden 5 mmol des zu reduzierenden Peroxids und 15 mmol Dikaliumazodicarboxylat in 10 ml wasserfreiem Methanol gegeben. Unter Rühren und Kühlen mit einem Eisbad wird innerhalb von 30 min eine Lösung von 30 mmol Essigsäure in 3 ml wasserfreiem Methanol eingetropft. Nach 3 h Rühren bei 30°C wird das Lösungsmittel im Rotationsverdampfer entfernt (0°C/10 Torr) und der Rückstand in 20 ml Wasser aufgenommen. Nach zweimaliger Extraktion mit je 20 ml CH_2Cl_2 werden die CH_2Cl_2 -Extrakte vereinigt, mit gesättigter wäßriger NaHCO_3 -Lösung gewaschen, über wasserfreiem MgSO_4 getrocknet und im Rotationsverdampfer eingedampft (0°C/10 Torr). Das Rohprodukt wird umkristallisiert.

Eingegangen am 1. August 1977 [Z 808]

CAS-Registry-Nummern:

- (1): 592-57-4 / (2): 6671-70-1 / (3): 280-53-5 / (4): 5718-73-0 /
(5): 59476-71-0 / (6): 63797-42-2 /
1,4-Dihydro-1,4-dimethyl-1,4-epidioxynaphthalin: 35461-84-8 /
Dikaliumazodicarboxylat: 4910-62-7.

- [1] W. Adam, Chem.-Ztg. 99, 142 (1975); Angew. Chem. 86, 683 (1974); Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 13, 619 (1974).
 - [2] H. O. House: Modern Synthetic Reactions. W. A. Benjamin, Menlo Park, Cal., 1972.
 - [3] (2): Ausbeute 41 %, Fp=85–86°C; C. Kaneko, A. Sugimoto, S. Tanaka, Synthesis 1974, 876; Fp=88.5°C.
 - [4] J. W. Hamersma, E. I. Snyder, J. Org. Chem. 30, 3985 (1965).
 - [5] Dünnschichtchromatographisch reines (3) zersetzt sich bei Raumtemperatur in wenigen Tagen. Eine Elementaranalyse wurde nicht durchgeführt.
 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , TMS): δ = 1.4–1.9 (m, 4H), 1.9–2.5 (m, 4H), 3.9 (m, 2H); IR (CCl_4): 2960, 2940, 2890, 2855, 1460, 1445, 1430, 1305, 1225, 1030, 950 cm^{-1} ; MS: m/e=114 (71 %), 81 (100), 67 (41), 57 (85), 43 (88) (P+1 = 6.62 %, P+2 = 0.68 %, ber. 6.72 % bzw. 0.59 %).
 - [6] H. Paget, J. Chem. Soc. 1938, 829.
 - [7] a) (5): Ausbeute 90 %, Fp=209–210°C (aus Methanol); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , TMS): δ = 0.8–1.2 (CH_3 , 18H), 1.2–2.5 (CH_2 , COCH_3 ; 27H), 4.9 (m, 1H), 5.15 (m, 2H); IR (CHCl_3): 2955, 2870, 2800, 1730, 1440, 1365, 1350, 1250, 1025, 960, 900 cm^{-1} ; MS: m/e=472 (1 %); korrekte Elementaranalyse; b) (6): Fp = 93–94°C (aus Hexan); $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3 , TMS): δ = 1.60 (s, 6H), 1.70 (m, 2H), 2.30 (m, 2H), 7.28 (m, 4H); IR (CCl_4): 3075, 3030, 2990, 2940, 2890, 2850, 1590, 1470, 1460, 1380, 1335, 1260, 1180, 1075 cm^{-1} ; MS: m/e = 190 (6 %), 158 (93), 143 (100), 128 (50), 115 (25), 91 (36), 76 (25), 43 (62); korrekte Elementaranalyse.
 - [8] H. Wasserman, D. L. Larsen, J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1972, 253.