

weist der Gaschromatogramme weitgehend selektiv, decarbonylieren<sup>[5]</sup>: Aldehyde, Carbonsäurechloride und Acylcyanide (Schema 2, R=CH<sub>3</sub>, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>). unkatalysiert sind für den gleichen Prozeß bis zu 700 K höhere Temperaturen nötig.

$\text{R}-\text{C}(=\text{O})-\text{X}$	$\xrightarrow{\Delta}$	$\text{R}-\text{X} + \text{CO}$
X	H	Cl
T [K]	370-420	420-470

X	H	Cl	CN
T [K]	370-420	420-470	430-470

Schema 2.

Ein unerwarteter Verlauf wird bei der Umsetzung von Alkylisocyanaten am Nickel/Kohle-Kontakt<sup>[4]</sup> beobachtet: Isopropylisocyanat z. B. zerstetzt sich unkatalysiert bei 920 K unter Bildung von Propen und HNCO; die Reaktion eignet sich zur Darstellung reiner Isocyaninsäure<sup>[6]</sup>. Im Gegensatz hierzu entstehen am Ni<sub>x</sub>/C<sub>60</sub>-Kontakt bei 500 K als Hauptprodukte CO, Methan und Acetonitril (Abb. 2).

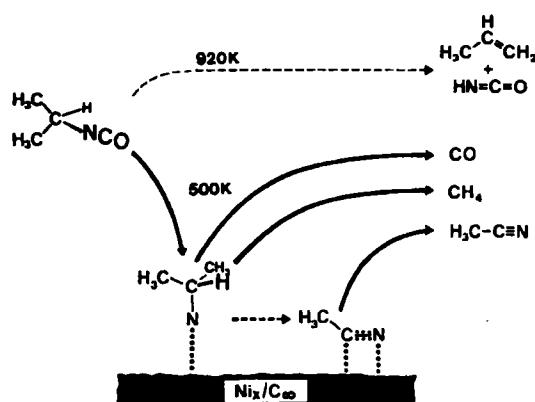


Abb. 2. Möglicher Mechanismus der Isopropylisocyanat-Zersetzung.

Da die CO-Abspaltung bereits oberhalb 400 K beginnt, liegt die Annahme eines chemisorbierten Isopropylnitrens als oberflächengebundenes Zwischenprodukt nahe; es könnte sich unter CH<sub>4</sub>-Eliminierung zu vermutlich  $\pi$ -gebundenem<sup>[7]</sup> Acetonitril stabilisieren. Letzteres beginnt unter den Reaktionsbedingungen erst nach etwa einstündiger Umsetzung und bei 50 K höherer Temperatur zu desorbieren. Die unkatalysierte thermische Zersetzung von *tert*-Butylisocyanat erfordert 900 K und führt zu HNCO und Isobuten; am Nickel/Kohle-Kontakt entstehen dagegen bereits oberhalb 500 K Isobuten und CO sowie – möglicherweise über eine Disproportionierung von NH-Oberflächenspezies<sup>[8]</sup> – NH<sub>3</sub> und N<sub>2</sub>.

Eingegangen am 27. Januar,  
ergänzte Fassung am 23. März 1987 [Z 2071]

[1] a) Cyanierung von Benzol an [Cu<sub>2</sub>/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>]: H. Bock, J. Wittmann, H.-J. Arpe, *Chem. Ber.* 115 (1982) 2326; b) Bromierung von F<sub>3</sub>CH an [NiF<sub>2</sub>/AlF<sub>3</sub>]: H. Bock, J. Wittmann, J. Mintzer, J. Russow, *ibid.* 115 (1982) 2346; c) dehydrerende Hydratisierung von Olefinen an [SnO<sub>2</sub>/P(MoO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>]: H. Bock, M. Haun, J. Mintzer, *8th Int. Congr. Catal. Proc.*, Vol. 5, Verlag Chemie, Weinheim 1984, S. 691; d) Dechlorierung von XPCl<sub>3</sub> an [Ag]: M. Binnewies, N. Solouki, H. Bock, R. Becherer, R. Ahrichs, *Angew. Chem.* 96 (1984) 704; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 23 (1984) 731; e) SiCl<sub>2</sub> aus Si<sub>n</sub>Cl<sub>2n+2</sub> und [Si]: H. Bock, B. Solouki, G. Maier, *ibid.* 97 (1985) 205 bzw.

24 (1985) 205; f) Reaktionen an Raney-Nickel: H. Bock, H. P. Wolf, *ibid.* 97 (1985) 411 bzw. 24 (1985) 418; g) Carben-Dimerisierung an Raney-Nickel: H. Bock, G. Tschmutowa, H. P. Wolf, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1986, 1069.

[2] H. Bock, B. Solouki, *Angew. Chem.* 93 (1981) 425; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 20 (1981) 427.

[3] a) Im Gegensatz zur umfangreichen Literatur über homogen katalysierte Carbonylierungsgleichgewichte, z. B. bei der Oxo-Synthese (vgl. K. Weissermel, H. J. Arpe: *Industrielle Organische Chemie*, 2. Aufl., Verlag Chemie, Weinheim 1978), gibt es nur wenige Veröffentlichungen über heterogen katalysierte Decarbonylierungen (vgl. z. B. *Houben-Weyl: Methoden der Organischen Chemie, Band VII, Teil 1*, Thieme, Stuttgart 1954, S. 494f). b) Zur CO-Eliminierung aus Furfurylaldehyd an Nickel- oder Cobaltkatalysatoren vgl. A. P. Dunlop, W. J. McKillip, S. Winder in *Ullmanns Encyclopädie der technischen Chemie*, Bd. 12, Verlag Chemie, Weinheim 1976, S. 15, besonders S. 19, an [Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub>/ZnO/Mn<sub>2</sub>O<sub>3</sub>]-Kontakten vgl. beispielsweise O. W. Can, *Ind. Eng. Chem.* 40 (1948) 216 oder S. A. Hiller, A. Y. Karmilchik, U. U. Stonkus, B. S. Kalayew, S. Shymanska in B. Delmon, P. A. Jacobs, G. Pouclet (Hrsg.): *Preparation of Catalysts*, Elsevier, Amsterdam 1976, S. 579f. c) Zur Decarbonylierung von Crotonaldehyd an Nickelpulver vgl. P. Sabatier, J. W. Senderens, *Ann. Chim. Paris* 4 (1905) 433.

[4] 20 g Aktivkohle (Strem, 4021-s 06-005, Körnung 2 mm, Oberfläche 1000 m<sup>2</sup>/g) werden in einem 250 mL-Rundkolben mit Tropftrichter bis zu einem Enddruck von 1 Pa entgast und in einer Lösung von 40 g Ni(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> · 6 H<sub>2</sub>O in 50 mL H<sub>2</sub>O bis zu beendeter Gasblasen-Entwicklung etwa 1 h ultrabeschallt. Nach Abdekantieren der überstehenden Flüssigkeit wird 12 h bei 370 K getrocknet. Jeweils 5 g Kontakt werden ins Reaktionsrohr (Abb. 1) zwischen Quarzwolle-Stopfen eingefüllt; es wird je 15 min mit N<sub>2</sub> und H<sub>2</sub> gespült, dann im H<sub>2</sub>-Strom (10 L/h) 30 min bei 320 K, 1 h bei 520 K sowie 3 h bei 720 K reduziert und schließlich bei 1 Pa und 720 K gebildetes Wasser entfernt. Der so hergestellte Nickel/Kohle-Kontakt enthält 7% Ni; die weitere Charakterisierung durch Röntgen-Pulverdiagramme wird gemeinsam mit Prof. M. Trömel, Universität Frankfurt, bearbeitet. Im allgemeinen liegen Metallpartikel-Durchmesser von Kontaktarten, die durch Adsorption von Metallnitraten aus Lösung, thermische Zersetzung und anschließende Reduktion mit H<sub>2</sub> hergestellt wurden, im nm-Bereich (vgl. J. R. Anderson: *Structure of Metallic Catalysts*, Academic Press, London 1975, Kap. 4 (Dispersed Metal Catalysts), S. 163 ff).

[5] Für die Crotonaldehyd-Decarbonylierung beträgt bei 530 K und einer Strömungsgeschwindigkeit LHSV ≈ 1/h der Umsatz 80% und die Propen-Selektivität 89%. Kontrollversuche über undotierter Aktivkohle belegen, daß bis 750 K keine CO-Abspaltung beobachtet wird.

[6] Üblicherweise wird HNCO durch Depolymerisation von Cyanursäure oberhalb 970 K dargestellt; als Nebenprodukte bilden sich CO<sub>2</sub>, HCN und H<sub>2</sub>O (Gmelins Handbuch der Anorganischen Chemie, Bd. Kohlenstoff D 1, 8. Aufl., Verlag Chemie, Weinheim 1971, S. 327 f). Demgegenüber entsteht bei der Pyrolyse von Isopropylisocyanat mit kurzen Kontaktzeiten lediglich leicht abtrennbares Propen (K<sub>p</sub> = 226 K/760 Torr; HNCO: K<sub>p</sub> = 297 K/760 Torr); zur Kinetik vgl. P. G. Blake, S. Ijadi-Maghsoodi, *Int. J. Chem. Kinet.* 15 (1983) 609.

[7] Die  $\pi$ -Koordination von Alkylcyaniden an Kupfer-Oberflächen konnte unter anderem IR-spektroskopisch nachgewiesen werden (A. M. Bradshaw, Fritz-Haber-Institut, Berlin, persönliche Mitteilung).

[8] Zum oberflächenphysikalischen Nachweis von NH<sub>(ads)</sub> als Zwischenprodukt der NH<sub>3</sub>-Synthese an Fe/K/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-Kontakten vgl. G. Ertl, *Catal. Rev.* 21 (1980) 201.

[9] K. Kimura, S. Katsumata, Y. Achiba, T. Yamasaki, S. Iwata: *Handbook of He(I)-Photoelectron Spectra of Fundamental Organic Molecules*, Halsted Press, New York 1981.

## IR-spektroskopische Bestimmung des Enzymgehalts von trägerfixierten Enzymen

Von Willi Herzog, Reinhold Keller\*, Erhart Neukum und Dieter Wullbrandt

Professor Heinz Harnisch zum 60. Geburtstag gewidmet

Als Katalysatoren für organische Synthesen gewinnen Enzyme zunehmend an Bedeutung<sup>[1]</sup>. Dabei werden sie sowohl bei Hydrolysen in technischem Maßstab als auch zur Herstellung von Reagentien für Analysen und Synthesen im Laboratoriumsmaßstab eingesetzt. Verbesserungen bei der Herstellung der Enzyme und bei deren Stabilisierung

[\*] Dr. R. Keller, Dr. W. Herzog, E. Neukum, Dr. D. Wullbrandt  
Hoechst Aktiengesellschaft, Zentralforschung  
D-6230 Frankfurt am Main 80

und Handhabung durch Immobilisierung machen diese Katalysatoren immer attraktiver.

Um optimale Bedingungen für die Immobilisierung der Enzyme zu finden, ist es erforderlich, neben der Aktivität den Enzymgehalt zu ermitteln und die spezifische Aktivität zu errechnen. Auf diese Weise erhält man auf die eingesetzte Enzymmenge bezogene Aktivitäten, die einen Vergleich der Katalysatoren ermöglichen. Wir zeigen nun am Beispiel des Enzyms  $\alpha$ -Chymotrypsin, daß sich der Enzymgehalt durch IR-Spektroskopie bestimmen läßt.  $\alpha$ -Chymotrypsin ist eine Endoprotease und katalysiert unter anderem die enantiospezifische Esterspaltung von L-Phenylalaninmethylester<sup>21</sup>.  $\alpha$ -Chymotrypsin wird bevorzugt an anorganischen Materialien wie Kieselgelen immobilisiert. Der Träger wird zuerst an der Oberfläche aminiert und dann über Glutardialdehyd mit dem Enzym gekuppelt (Abb. 1).

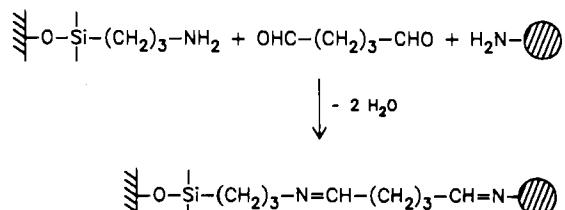


Abb. 1. Kupplung eines aminierten Silicaträgers über Glutardialdehyd mit einem Enzym, schematisch.

Die IR-Messungen erfolgten in Transmission mit einem Perkin-Elmer-Gitterspektrometer 580 B, an das ein Computer (Perkin-Elmer PC-7300 mit CDS-IR-Software) angeschlossen war. Zunächst wurde durch Aufnahme der IR-Spektren selbsttragender, mit einer Preßkraft von 100 kN hergestellter Targets von ca. 10 mg Gewicht (Durchmesser: 13 mm, Dicke: < 0.1 mm) aus dem Trägermaterial, dem mit Glutardialdehyd behandelten Trägermaterial und demträgerfixierten  $\alpha$ -Chymotrypsin (Abb. 2) nachgewiesen, daß keine Bandenüberlappung vorliegt.

Das Spektrum des Katalysators zeigt bei  $\tilde{\nu}=3350 \text{ cm}^{-1}$  eine breite Bande, die hauptsächlich von NH<sub>2</sub>- und NH-Gruppen des Enzyms herrührt. Neben den Absorptions-

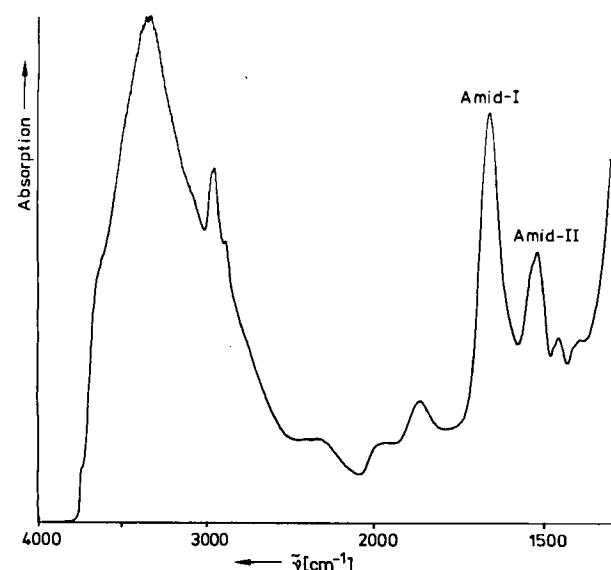


Abb. 2. IR-Spektrum des frischen Katalysators aus Propylamin-Kieselgel, Glutardialdehyd und  $\alpha$ -Chymotrypsin (siehe Text).

banden der CH<sub>3</sub>- und CH<sub>2</sub>-Valenzschwingung im Bereich von 2970–2880 cm<sup>-1</sup> und denen der Gitterrobertonschwingungen des Trägermaterials bei 2000–1850 cm<sup>-1</sup> treten die Amid-I- und Amid-II-Banden des Enzyms bei 1650 bzw. 1540 cm<sup>-1</sup> deutlich hervor. Das Integral dieser beiden Amid-Banden gilt als Maß für den Enzymgehalt. Nach der Aufnahme des IR-Spektrums wurde das Target gewogen und das Spektrum auf 10 mg Einwaage normiert. Wegen der verhältnismäßig starken Absorption von Wasser bei 1650 cm<sup>-1</sup> mußten die Proben vor dem Pressen sorgfältig getrocknet werden. Dies geschah in einem Pumpstand mit Vorpumpe und Diffusionspumpe zunächst bis zu einem Druck von 1 mbar und nach feinem Zerreiben des Katalysators bis zu einem Druck von weniger als  $5 \cdot 10^{-3}$  mbar.

Zur Erstellung der Eichkurve wurde ein Stammgemisch von 880 mg Propylamin-Kieselgel und 120 mg  $\alpha$ -Chymotrypsin angesetzt, zur besseren Vermischung angefeuchtet und anschließend getrocknet. Aus diesem Stammgemisch mit einem Gehalt von 12 Gew.-%  $\alpha$ -Chymotrypsin wurden durch Zugabe von Propylamin-Kieselgel weitere Mischungen bis herab zu einem Gehalt von 2 Gew.-%  $\alpha$ -Chymotrypsin hergestellt (Abb. 3). Zur Ermittlung der Streubreite wurden die Spektren von jeweils vier Preßlingen registriert.

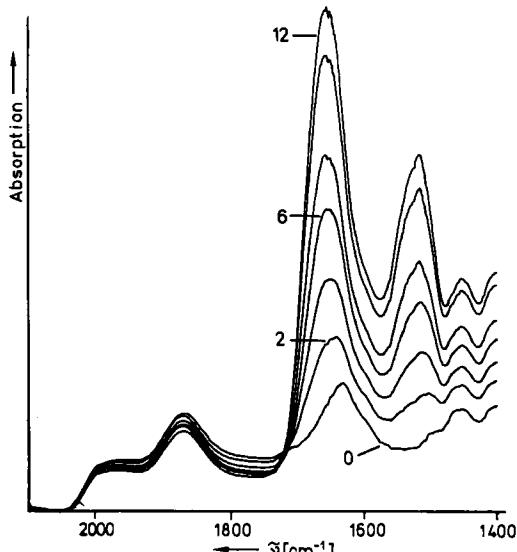


Abb. 3. IR-Spektren von frischen Katalysatoren (vgl. Abb. 2) in Abhängigkeit vom  $\alpha$ -Chymotrypsingehalt (Zahlenangaben in Gew.-%).

Anschließend wurde eine Integration im Bereich der Amid-Banden von 1736 bis 1426 cm<sup>-1</sup> durchgeführt. Nach Berücksichtigung des Nulleffektes (Absorption des Propylamin-Kieselgels im gleichen Bereich) wurde die Eichkurve erstellt (Abb. 4).

Nachdem die Eichkurve vorlag, wurde IR-spektroskopisch der  $\alpha$ -Chymotrypsingehalt von fünf Frischkontakte bestimmt, bei deren Herstellung unterschiedliche Enzymmengen eingesetzt worden waren (untere Meßgrenze ca. 1 Gew.-%, relativer Fehler 3%). Wie Tabelle 1 zeigt, wird  $\alpha$ -Chymotrypsin bei der Katalysatorherstellung vollständig an das Kieselgel gebunden.

Da die katalytische Aktivität von frisch hergestellten Katalysatoren während der Reaktion abnimmt, wurde geprüft, ob dies auf einen Enzymverlust oder eine Desaktivierung des Enzyms zurückzuführen ist. Die aus Abbil-

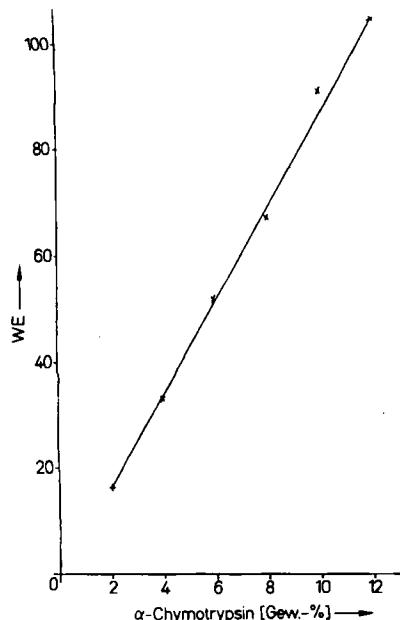


Abb. 4. Eichkurve für die IR-spektroskopische Bestimmung des  $\alpha$ -Chymotrypsingehalts in Trägerkatalysatoren (vgl. Abb. 2). WE bedeutet willkürliche Einheiten (siehe Text)

Tabelle 1. Vergleich des nach der Einwaage zu erwartenden Enzymgehalts mit dem IR-spektroskopisch nachgewiesenen Enzymgehalt.

Enzymgehalt [Gew.-%] nach Einwaage	Enzymgehalt [Gew.-%] IR-spektroskopisch
1	1.3
5	4.8
8	7.7
10	9.9
15	14.5

dung 5 ermittelten Enzymgehalte des Frischkontakte und der gebrauchten Kontakte sind zusammen mit anderen Werten in Tabelle 2 wiedergegeben.

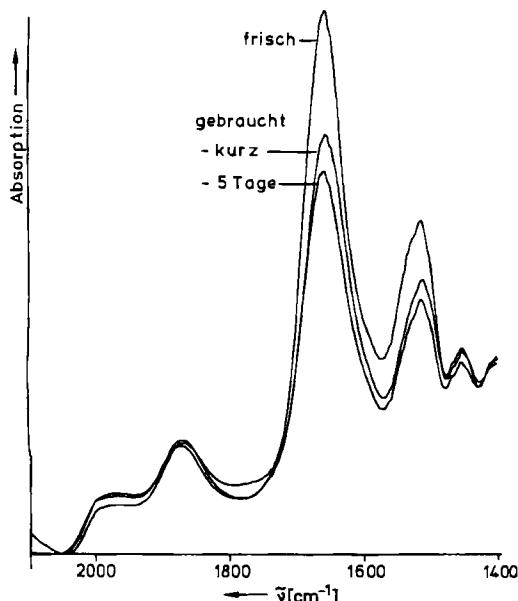


Abb. 5. Vergleich der IR-Spektren von frischen und gebrauchten Katalysatoren (vgl. Abb. 2 und Abb. 5).

Tabelle 2. Enzymverlust während der Reaktion (siehe Abb. 5 und Text).

Katalysator	Gebrauchszeit [h]	Enzymgehalt [Gew.-%]	Verbliebenes Enzym [%] [a]
Frischkontakt I	—	9.5	
	1	7.2	74.5
	120	7.0	72.1
Frischkontakt II	—	10.3	
	120	6.8	66.1

[a] Bezogen auf Enzymgehalt des Frischkontakte.

Diese Werte zeigen deutlich, daß während des Gebrauchs ein Enzymverlust eintritt. Aus Messungen an gebrauchten Katalysatoren geht hervor, daß die katalytische Aktivität im gleichen Maße wie der Enzymgehalt abnimmt; demnach ist der Aktivitätsverlust in erster Linie auf einen Enzymverlust und nicht auf eine Desaktivierung zurückzuführen. – Der Katalysator wurde in einem kontinuierlich betriebenen Festbettreaktor mit Durchflußgeschwindigkeiten von  $SV \geq 400 \text{ h}^{-1}$  eingesetzt. Der starke anfängliche Aktivitätsabfall ist sehr wahrscheinlich darauf zurückzuführen, daß aufgrund der hohen Durchflußgeschwindigkeiten und der damit verbundenen Scherkräfte Protein an der äußeren Hülle des Trägerkorns abgelöst wird.

Eingegangen am 30. Januar,  
veränderte Fassung am 5. März 1987 [Z 2080]

[1] G. M. Whitesides, C.-H. Wong: *Angew. Chem.* 97 (1985) 617; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 24 (1985) 617.

[2] J. B. Jones, C. J. Sih, D. Perlman: *Applications of Biochemical Systems in Organic Chemistry, Part I*, Wiley, New York 1976, S. 116.

## Photooxidation von 2,5-Dimethyl-2,3,4-hexatrien – Matrixisolation eines Trisdioxetans\*\*

Von Wolfram Sander\* und Andreas Patyk

Photooxidationen von Verbindungen mit reaktiven Doppelbindungen mit Singulett-Sauerstoff, die zu Dioxetanen oder Produkten vom En-Typ führen, sind gut untersucht<sup>[1]</sup>. Nur wenig ist aber über die direkte Photoreaktion von Olefinen mit Triplett-Sauerstoff bekannt<sup>[2]</sup>. Die meisten ungesättigten Verbindungen werden langsam oxidiert, wenn sie Licht und Luft ausgesetzt sind (Autoxidation), manche Cumulene sind dagegen sehr reaktiv. Von 2,5-Dimethyl-2,3,4-hexatrien (Tetramethylbutatrien 1) zum Beispiel ist bekannt, daß es an Luft schnell zu einem sauerstoffhaltigen Polymer reagiert<sup>[3]</sup>. Daher haben wir 1 als Modellverbindung für eine Untersuchung der Photooxidation reaktiver Olefine gewählt. Um die ersten Reaktionsschritte untersuchen zu können und um Radikalkettenreaktionen und andere intermolekulare Reaktionen zu vermeiden, haben wir bei tiefen Temperaturen (10–40 K) in Argon-Sauerstoff-Matrizes gearbeitet.

[\*] Dr. W. Sander, A. Patyk  
Organisch-chemisches Institut der Universität  
Im Neuenheimer Feld 270, D-6900 Heidelberg

[\*\*] Wir danken Professor R. Gleiter, Heidelberg, für die Unterstützung dieser Arbeit und Professor O. L. Chapman, Los Angeles, CA (USA), für hilfreiche Diskussionen. Diese Arbeit wurde von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.