

entsprechenden  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ester gelang nicht. Eine Peterson-Olefinition mit lithiertem Trimethylsilylessigsäureethylester ergab nur 28% des  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Esters (+34% wiedergewonnenes Edukt). Dagegen führte die Reformatsky-Reaktion fast vollständig zum  $\beta$ -Hydroxyester, dessen Dehydratisierung bisher jedoch noch nicht gelang. Eine modifizierte Reformatsky-Reaktion (mit Dichlorsäuremethylster und Zn in Gegenwart von Diethylaluminiumchlorid: K. Takai, Y. Hotta, K. Oshima, H. Nozaki, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1980**, 53, 1698) lieferte den  $\alpha,\beta$ -ungesättigten Ester in 73% Ausbeute. Erste Versuche, ein Ein-Kohlenstoff-Fragment an das Enon zu addieren, verließen erfolglos. Diese Studien wurden angesichts unseres Erfolgs mit dem Spirobutanon nicht weiter vorangetrieben.

- [7] B. M. Trost, M. J. Bogdanowicz, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 5311.
- [8] B. M. Trost, M. J. Bogdanowicz, *J. Am. Chem. Soc.* **1973**, 95, 5321.
- [9] B. M. Trost, J. H. Rigby, *J. Org. Chem.* **1976**, 41, 3217.
- [10] Zur Zeit können wir nicht sicher sagen, ob die Lactonbildung bei der sauren Aufarbeitung des Produkts der Vierringöffnung erfolgt, oder – was interessanter wäre – durch nucleophilen Angriff der C1-Hydroxygruppe im Zuge der Spaltung nach der Bissulfenylierung.
- [11] M. R. Kernan, D. J. Faulkner, *J. Org. Chem.* **1988**, 53, 2773.
- [12] S. R. Magnuson, L. Sepp-Lorenzino, N. Rosen, S. J. Danishefsky, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 1615.
- [13] Ausgewählte spektroskopische Daten von **25**:  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 7.22$  (d,  $J = 8.6$  Hz, 2 H), 6.84 (d,  $J = 6.8$ , 2.1 Hz, 2 H), 5.34 (t,  $J = 5.6$  Hz, 1 H), 5.12 (d,  $J = 5.6$  Hz, 1 H), 4.39 (s, 2 H), 3.93 (dt,  $J = 11.4$  Hz, 1 H), 3.77 (s, 3 H), 3.58 (t,  $J = 5.7$  Hz, 1 H), 3.40 (t,  $J = 6.5$  Hz, 2 H), 2.69 (dd,  $J = 5.6$ , 0.9 Hz, 1 H), 2.53 (m, 3 H), 2.31 (dd,  $J = 10.2$  Hz, 1 H), 2.02 (s, 3 H), 1.58 (m, 4 H), 1.28 (m, 6 H), 0.85 (s, 9 H), 0.039 (s, 3 H), 0.007 (s, 3 H);  $^{\text{13}}\text{C-NMR}$  (100 MHz,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta = 1771$ , 1698, 1558, 1508, 1248, 1091  $\text{cm}^{-1}$ ; LR-MS: ber. für  $\text{C}_{34}\text{H}_{48}\text{O}_8\text{SiNa}$ : 635.3, gef.: 635.3 [ $M+\text{Na}^+$ ].
- [14] Die Einführung der C5-C6-Brückenkopf-Doppelbindung gelang kürzlich: D. Meng, Columbia Universität, unveröffentlichte Ergebnisse.

in der Flüssigchromatographie<sup>[1,2]</sup> oder der Katalyse<sup>[3]</sup> auftreten, die aber auch mit dem Transport von Verunreinigungen im Grundwasser<sup>[4]</sup> oder aber der Ölextraktion<sup>[5]</sup> eng verbunden sind. Die Porengrößenverteilungen der meisten porösen Materialien zeichnen sich durch das Auftreten von zwei oder gar mehr separaten Peaks aus. In Chromatographiesäulen, die üblicherweise mit porösen Teilchen gepackt sind, werden sie durch die Poren im Zwischenkornraum und die viel kleineren Poren in den Teilchen verursacht.<sup>[1,6]</sup> Obwohl die Kinetik des diffusionskontrollierten Massentransfers zwischen den Flüssigkeitsmolekülen der mobilen Phase, die das Säulenbett im Zwischenkornraum durchströmen, und denjenigen, die sich in den Poren der Teilchen befinden, als limitierender Schritt einer Vielzahl dynamischer Prozesse wirkt, die beispielsweise die Effizienz von Chromatographiesäulen<sup>[2]</sup> oder die ökonomische Ölförderung aus einem Reservoir einschließen, ist bisher keine direkte und quantitative Messung dieser Massentransferkinetik möglich gewesen. Hier zeigen wir, wie mit der Pulsed-Field-Gradient(PFG)-NMR-Methode<sup>[7]</sup> diese Kinetik bestimmt werden kann. Die Durchführung einer einzigen Meßreihe gestattet dabei nicht nur die direkte Verfolgung des Flüssigkeitsanteils in den Teilchen, der auf einer wohldefinierten Zeitskala mit der durch den Zwischenkornraum fließenden mobilen Phase austauscht, sondern ermöglicht auch die Bestimmung der totalen Porosität des Materials und der Tortuosität des Porennetzwerkes im Innern der Teilchen.

Abbildung 1 veranschaulicht die Struktur eines Säulenbettes aus porösen Teilchen, wie man es in der Chromatographie oder aber bei Anwendungen in der heterogenen

## NMR-spektroskopische direkte Verfolgung des Massentransfers in porösen Materialien\*\*

Ulrich Tallarek, Dagmar van Dusschoten, Henk Van As, Georges Guiochon und Ernst Bayer\*

*In memoriam John Calvin Giddings*

Der disperse Stofftransport durch heterogene poröse Materialien, eine Kombination aus Konvektion und gehinderter Diffusion, ist von fundamentaler Bedeutung für eine Reihe dynamischer Prozesse, wie sie beispielsweise inhärent

[\*] Prof. Dr. E. Bayer, Dr. U. Tallarek  
Institut für Organische Chemie der Universität  
Auf der Morgenstelle 18, D-72076 Tübingen  
Fax: (+49) 7071-29-5034  
E-mail: ernst.bayer@uni-tuebingen.de

Dr. D. van Dusschoten, Dr. H. Van As  
Department of Molecular Physics & Wageningen NMR Centre  
Wageningen Agricultural University  
Dreijenlaan 3, NL-6703 HA Wageningen (Niederlande)

Prof. Dr. G. Guiochon  
Department of Chemistry, University of Tennessee at Knoxville  
Knoxville, TN, 37996-1600 (USA)  
und  
Chemical and Analytical Sciences Division, Oak Ridge National Laboratory  
Oak Ridge, TN, 37831 (USA)

[\*\*] Diese Arbeit wurde durch einen Human Capital and Mobility Grant von der Europäischen Union, vom U.S. Department of Energy sowie von der Deutschen Forschungsgemeinschaft gefördert.

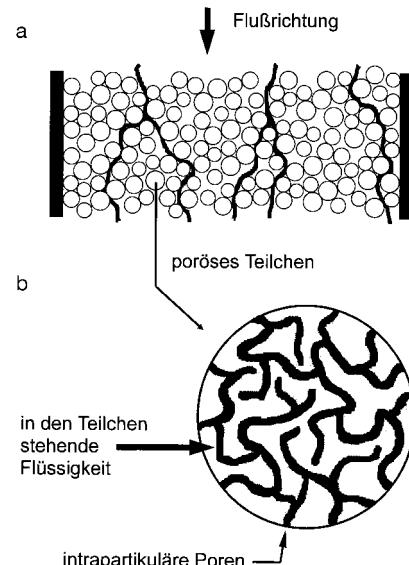


Abb. 1. Schematische Darstellung der Struktur eines mit porösen Teilchen erhaltenen Säulenbettes und der Verteilung der flüssigen Phase. a) Strömungslinien, denen die in den groben Poren des Zwischenkornraumes strömenden Flüssigkeitsmoleküle folgen. b) Stehende Flüssigkeit in den feinen Poren einzelner Teilchen. Der Austausch mit der interpartikulären Flüssigkeit erfolgt durch Diffusion.

Katalyse antrifft. Poröse Gesteine zeigen eine weitaus komplexere Struktur (mit gewöhnlich multimodaler Porengrößenverteilung) und Porenverknüpfung,<sup>[8]</sup> jedoch können Öl

und Wasser durch vorhandene Risse fließen und dabei Regionen mit sehr viel feineren Porennetzwerken erreichen. Der Zugang zu ihnen erfolgt dann aber nur durch Diffusion. Die axiale Dispersion einer Bande bei der Chromatographie wird verursacht durch axiale Diffusion entlang der Strömungslinien, durch Eddy-Diffusion (resultiert aus der Anatomie des Porenraumes und unterschiedlichen Fließgeschwindigkeiten in individuellen Strömungslinien) sowie durch die Kinetik des Massentransfers in den porösen Teilchen.<sup>[2]</sup> Da diese Prozesse auf verschiedenen dynamischen Zeitskalen verlaufen, können ihre einzelnen Beiträge zur Bandenverbreiterung unabhängig voneinander und quantitativ mit der PFG-NMR-Methode direkt in der Säule bestimmt werden. Dabei wird eine einzige (reine) flüssige Phase – der Einfachheit halber Wasser – verwendet, die die Packung kontinuierlich durchströmt. Mit dieser Arbeitsweise werden Probleme durch den zusätzlichen Beitrag des Extrasäulenvolumens zur Bandenverbreiterung, einer nicht idealen Probenaufgabe und des NMR-Detektionslimits (bei alternativer Einführung von Tracermolekülen in die Säulenpackung) umgangen.<sup>[9]</sup>

Die PFG-NMR-Methode basiert auf der Wirkung eines linearen magnetischen Feldgradienten, mit dem die Bewegung der Flüssigkeitsmoleküle kodiert werden kann.<sup>[7]</sup> Er wird in gepulster Form dem statischen Feld des Magneten für eine kurze Zeit überlagert. Ein zweiter, identischer Gradientenpuls, der zeitlich nach einer exakt einstellbaren und veränderlichen Beobachtungszeit ( $\Delta$ ) auf den ersten folgt, kompensiert nur dann exakt den entlang der Gradientenrichtung ortsabhängigen Phasenshift der spintragenden Flüssigkeitsmoleküle ( $^1\text{H}_2\text{O}$ ), wenn sie ihre Position entlang der Richtung des Gradienten nicht verändert haben. Folglich spiegelt sich in den verbleibenden Phasenshifts der Flüssigkeitsmoleküle direkt ihre Dynamik über diese wohldefinierte Beobachtungszeit wieder. In einem idealen PFG-NMR-Experiment<sup>[10]</sup> wird das normierte Signal,  $E(\mathbf{q},\Delta)$ , bezüglich Amplitude und Phase beschrieben durch Gleichung (1).

$$E(\mathbf{q},\Delta) = \int \bar{P}(\mathbf{R},\Delta) \exp(i2\pi\mathbf{q} \cdot \mathbf{R}) d\mathbf{R} \quad (1)$$

In dieser Gleichung definiert das Gradientenintegral einen Wellenvektor,<sup>[11]</sup>  $\mathbf{q} = (2\pi)^{-1} \gamma \delta \mathbf{g}$ , welcher raumreziprok ist zur dynamischen Verschiebung der Flüssigkeitsmoleküle,  $\mathbf{R}$ , die über die Zeit  $\Delta$  entlang der Richtung des Gradienten stattfindet (z.B. durch Konvektion). Dabei steht  $\mathbf{g}$  für die Amplitude und die Richtung des magnetischen Feldgradienten,  $\delta$  für seine Dauer ( $\delta \ll \Delta$ ), und  $\gamma$  ist das gyromagnetische Verhältnis des betrachteten Kernes (hier  $^1\text{H}$ ). Die Größe  $\bar{P}(\mathbf{R},\Delta)$ , die sich durch eine direkte Fourier-Beziehung zum gemessenen PFG-NMR-Signal auszeichnet, ist die Wahrscheinlichkeitsverteilung der dynamischen Verschiebungen, der „Propagator“.<sup>[12]</sup> Folglich kann die quantitative Verteilung der dynamischen Verschiebungen der Flüssigkeitsmoleküle aus dem gemessenen Signal direkt durch Fourier-Transformation von  $E(\mathbf{q},\Delta)$  bezüglich  $\mathbf{q}$  erhalten werden. Durch geeignete Wahl sowohl der Beobachtungszeit als auch der Fließgeschwindigkeit kann dann die Massentransferkinetik zwischen (diffusiver) mobiler Phase in den Poren der Teilchen und (fließender) mobiler Phase im Zwischenkornraum detailliert untersucht werden.

Für die klassische konvektive Dispersion in einem mit nicht porösen Teilchen gepackten Säulenbett ist die Verteilung der dynamischen Verschiebungen  $\mathbf{R}$  der Flüssigkeitsmoleküle Gauß-förmig,<sup>[13]</sup> und der in Flußrichtung gemittelte Propagator  $\bar{P}(\mathbf{R},\Delta)$  ist durch Gleichung (2) gegeben.

$$\bar{P}(\mathbf{R},\Delta) = \frac{1}{\sqrt{2\pi\sigma^2}} \exp\left[\frac{-(\mathbf{R} - \bar{\mathbf{u}}\Delta)^2}{2\sigma^2}\right] \quad (2)$$

In dieser Gleichung steht  $\bar{\mathbf{u}}$  für die über den Säulenquerschnitt gemittelte Fließgeschwindigkeit und  $\sigma^2 = 2D_{ap}\Delta$  für die Varianz der Verteilung. Folglich kann man für eine Packung aus nichtporösen Teilchen den Dispersionskoeffizienten ( $D_{ap}$ ) der Flüssigkeitsmoleküle und ihre Fließgeschwindigkeit ( $\bar{\mathbf{u}}$ ) in einfacher Weise aus der Standardabweichung ( $\sigma$ ) und der Position des Maximums dieser Gauß-Verteilung (bei  $\bar{\mathbf{u}}\Delta$ ) ermitteln.

Verwendet man hingegen poröse Teilchen, dann setzt sich  $\bar{P}(\mathbf{R},\Delta)$ , solange der Austausch zwischen intra- und interpartikulären Flüssigkeitsmolekülen nicht vollständig erfolgt ist, aus zwei Gauß-Kurven zusammen (Abb. 2 und 3). Neben

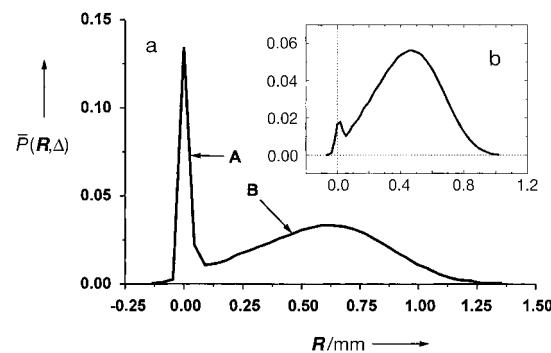


Abb. 2. Wahrscheinlichkeitsverteilung der dynamischen Verschiebungen der Flüssigkeitsmoleküle in zwei Chromatographiesäulen, die mit sphärisch geformten, vollständig porösen,  $\text{C}_{18}$ -funktionalisierten Kieselgelteilchen (YMC Europe, Schermbeck) gepackt wurden. Intrapartikuläre Porengrößenverteilung  $13 \pm 1.5 \text{ nm}$ ; Fließgeschwindigkeit  $F_v = 8.8 \text{ mL min}^{-1}$ ; Beobachtungszeit  $\Delta = 30 \text{ ms}$  ( $\delta = 4.0 \text{ ms}$ ); flüssige Phase: reines Wasser (entgast). Die PEEK-Säulen wurden nach Standardverfahren<sup>[1]</sup> mit der Slurry-Technik gepackt. Die PFG-NMR-Messungen wurden an einem 0.5-T-NMR-Spektrometer durchgeführt, bestehend aus einer SMIS-Konsole (Surrey Medical Imaging Systems, Guildford, Großbritannien), einem Eisenkernmagneten (Bruker, Karlsruhe) sowie einem aktiv abgeschirmten Gradientensystem und einer Solenoid-RF-Spule (Doty Scientific, Columbia, OH, USA). a) Mittlerer Teilchendurchmesser  $d_p = 50 \mu\text{m}$ . Die erste Gauß-Kurve (A, nicht ausgetauschte intrapartikuläre Flüssigkeit, 21 %) ist bezüglich des Ursprungs zentriert, während die zweite (B, fließendes Zwischenkornwasser, 79 %) ihr Maximum bei einer dynamischen Verschiebung von  $\bar{\mathbf{u}}\Delta = 0.638 \text{ mm}$  und eine Standardabweichung von  $\sigma_1 = 0.365 \text{ mm}$  aufweist. b)  $d_p = 15 \mu\text{m}$ . Der Anteil nicht ausgetauschter intrapartikulärer Flüssigkeit bei derselben Beobachtungszeit beträgt nur 2.5 %. Das Maximum der Gauß-Kurve, die die fließenden Teilchen charakterisiert, liegt bei  $\bar{\mathbf{u}}\Delta = 0.463 \text{ mm}$  ( $\sigma_1 = 0.215 \text{ mm}$ ).

derjenigen Gauß-Verteilung, welche die durch den Zwischenkornraum strömenden Flüssigkeitsmoleküle hervorrufen, wird die zweite Gauß-Verteilung nun durch die (über die Beobachtungszeit  $\Delta$ ) in den porösen Teilchen verbleibenden Flüssigkeitsmoleküle verursacht, die daher auch nicht am Flußgeschehen im Zwischenkornraum teilhaben können (Abb. 1). Folglich findet sich das Maximum dieser letzteren,

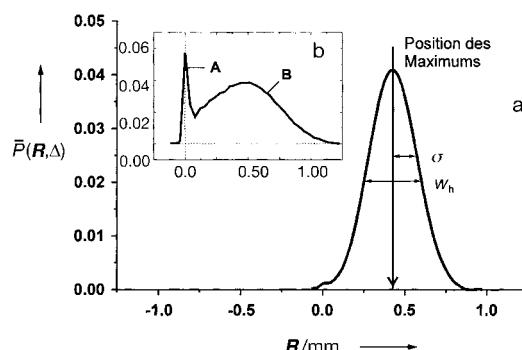


Abb. 3. Wie in Abb. 2, aber mit  $F_v = 2.2 \text{ mL min}^{-1}$  und  $\Delta = 120 \text{ ms}$ . a)  $d_p = 15 \mu\text{m}$ . Die in den Poren der Teilchen stehende Flüssigkeit ( $R=0$ ) ist annähernd vollständig ausgetauscht (verbleibender Anteil < 1%). Das Maximum der Gauß-Verteilung liegt bei  $\bar{u}\Delta = 0.445 \text{ mm}$  ( $\sigma_1 = 0.145 \text{ mm}$ ). b)  $d_p = 50 \mu\text{m}$ . Die nicht ausgetauschten, intrapartikulären Flüssigkeitsmoleküle machen immer noch 8.5% der Flüssigkeit aus (A), während 91.5% der Flüssigkeitsmoleküle am Fluß teilnehmen und dadurch eine entsprechende dynamische Verschiebung erfahren (B).

ein reines Diffusionsverhalten charakterisierenden Gauß-Kurve bei  $R=0$ . Das integrale Verhältnis der beiden Gauß-Verteilungen liefert hier einen direkten Hinweis auf den Anteil an intrapartikulärer Flüssigkeit, die über den Zeitraum  $\Delta$  mit der Zwischenkornflüssigkeit nicht austauschen konnte, und nimmt mit zunehmender Beobachtungszeit ab. Offensichtlich ist dieser Anteil bei gleicher Beobachtungszeit für 50-μm-Teilchen deutlich größer als für 15-μm-Teilchen (Abb. 2 und 3). So zeigt Abbildung 2, daß bei der kürzesten hier gewählten Beobachtungszeit ( $\Delta = 30 \text{ ms}$ ) 21% der Flüssigkeitsmoleküle ( $\text{H}_2\text{O}$ ) in der mit den größeren Teilchen gepackten Säule, jedoch nur 2.5% in der mit den kleineren Teilchen gepackten, nicht ausgetauscht in den Poren der Teilchen zurückbleiben.

Nach 120 ms ist nahezu die gesamte in den Poren der 15-μm-Teilchen stehende Flüssigkeit ausgetauscht (Abb. 3a), während aber immer noch 8.5% in den Poren der 50-μm-Teilchen verbleiben (Abb. 3b). Über die Standardabweichungen (oder auch die Halbwertsbreiten  $w_h$ ) der beiden Gauß-Verteilungen lassen sich die jeweiligen Diffusions- und Dispersionskoeffizienten der Flüssigkeitsmoleküle im intra- und interpartikulären Porenraum ermitteln. So läßt sich, ausgehend von der in Abbildung 3b gezeigten Propagator-Verteilung, für die überwiegend im Zwischenkornraum befindliche Flüssigkeit ein axialer Dispersionskoeffizient  $D_{ap,1} = \sigma_1^2/2\Delta = 3.18 \times 10^{-3} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$  bestimmen, während sich für die intrapartikulären Flüssigkeitsmoleküle ein Diffusionskoeffizient von  $D_{ap,2} = 1.05 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$  ergibt. Der molekulare Diffusionskoeffizient für reines Wasser (ungehinderte Diffusion) wurde mit der PFG-NMR-Methode zu  $D_m = 2.15 \times 10^{-5} \text{ cm}^2 \text{s}^{-1}$  bei  $23^\circ\text{C}$  bestimmt. Somit errechnet sich für das intrapartikuläre Porennetz ein Tortuositätsfaktor von  $D_{ap,2}/D_m = 0.51$ , ein sinnvoller Wert für ein kompliziertes Poresystem.<sup>[3]</sup> Dieser geometrische Parameter ist eine wichtige Größe, die die Porenverknüpfung in porösen Materialien charakterisiert. Bisher war seine direkte Bestimmung extrem schwierig und recht ungenau.

Ist der Austausch zwischen beiden Flüssigkeitsfraktionen vollständig, so wird nur eine Gauß-Verteilung beobachtet

(Abb. 3). Ihre Varianz enthält dann den gesamten Beitrag dieser diffusionskontrollierten Massentransferkinetik. Ist dies der Fall, so kann die totale Porosität des Säulenbettes ( $\varepsilon_T$ ) in einfacher Weise aus der Fließgeschwindigkeit errechnet werden,  $|\bar{u}| = 4F_v/\varepsilon_T\pi d_c^2$  ( $d_c$  = Säulendurchmesser,  $F_v$  = volumetrische Fließgeschwindigkeit), welche selbst über die Position des Maximums der Gauß-Kurve (bei  $\bar{u}\Delta$ ) erhalten wird. Werte für  $\varepsilon_T$  von 0.67 und 0.65 wurden auf diese Weise für die Säulenpackungen aus 50- und 15-μm-Teilchen errechnet. Diese Werte zeigen eine hervorragende Übereinstimmung mit Daten, die kürzlich auf der Basis unabhängiger, chromatographischer Methoden erhalten wurden.<sup>[14]</sup>

In Abbildung 4 ist der über die jeweilige Beobachtungszeit  $\Delta$  nicht ausgetauschte intrapartikuläre (stehende) Flüssigkeitsanteil ( $f_{st}$ ) gegen die Fick-Zahl ( $2D_m\Delta/d_p^2$ ) aufgetragen.

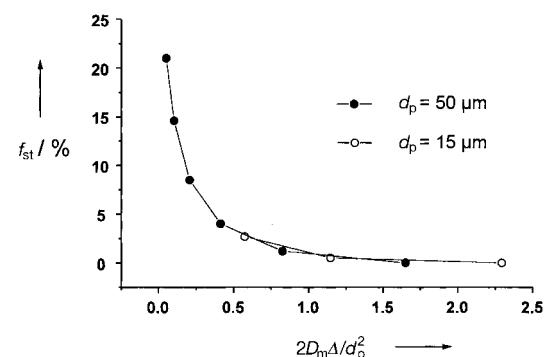


Abb. 4. Auftragung des nicht ausgetauschten intrapartikulären Flüssigkeitsanteils ( $f_{st}$ ) gegen die Fick-Zahl ( $2D_m\Delta/d_p^2$ ). Für die 50-μm-Teilchen wurde die Beobachtungszeit sukzessiv von 30 auf 960 ms verdoppelt um einen vollständigen Austausch zu erzielen; für die 15-μm-Teilchen wurde sie von 30 auf 120 ms erhöht.

Die Verwendung der Fick-Zahl normiert die Daten bezüglich des Teilchendurchmessers und ermöglicht eine Abschätzung der Zeit, die für den zwischen intra- und interpartikulärer Flüssigkeit erfolgenden Massentransfer charakteristisch ist. Die Ähnlichkeit des Verlaufs der Daten beider Säulenpackungen ist durchaus erwartungsgemäß, da die verwendeten Packungsmaterialien gleichen Ursprungs sind. Dieses Ergebnis zeigt, daß der Massentransfer in ähnlichen Porennetzwerken einer reduzierten Betrachtungsweise zugänglich ist, und liefert eine nützliche Basis für den Vergleich verschiedener Poresysteme.

Die Verwendung von Säulen und Zubehör aus Poly(aryletheretherketon) (PEEK) war ein wesentlicher Faktor für den Erhalt brauchbarer Daten. Dieses hochfeste, polymere Material ermöglicht das Packen und Betreiben von Säulen unter für chromatographische Anwendungen realistischen Bedingungen (bis zu 350 bar) sowie die Aufnahme von NMR-Daten, die zur Klärung von Problemen von großer Bedeutung sind, die bei der Untersuchung von konsolidierten Teilchenpackungen auftreten.<sup>[15]</sup> Die entsprechende Implementierung ist recht einfach auszuführen und ist eine deutliche Verbesserung gegenüber den nichtkonsolidierten, losen (meistens lediglich zentrifugierten) Teilchenpackungen, die in gewöhnlichen NMR-Röhrchen erhalten werden und durch die hindurch die Konvektion einer Flüssigkeit nicht möglich ist.<sup>[16]</sup>

Das große Potential und die breite Anwendbarkeit der hier gezeigten PFG-NMR-Untersuchungen liegt in der Vielzahl der direkt erhaltenen Parameter, die den Transport und die Dynamik von Flüssigkeiten in porösen Materialien charakterisieren (Fluß, zeitlich aufgelöster Massentransfer, Diffusion, Dispersion, Tortuosität, Porosität). Eine einzige Messung, die gewöhnlich weniger als 15 Minuten beansprucht, kann hier bereits einen tiefen Einblick gewähren. Diese quantitativen Untersuchungen zum Massentransfer können mit einer Vielzahl von porösen Materialien durchgeführt werden, in denen eine flüssige Phase innerhalb und zwischen mikro- und makroporösen Porennetzwerken austauscht. Derartige Situationen trifft man beispielsweise beim Grundwassertransport oder beim Transport von Wasser in Pflanzen an sowie in Fermentoren und in den verschiedensten Teilchenpackungen, wie sie in der Biotechnologie, Katalyse oder Chromatographie Verwendung finden.

Eingegangen am 26. Februar 1998 [Z11521]

**Stichwörter:** Analytische Methoden • Flüssigchromatographie • Massentransfer • NMR-Spektroskopie • Poröse Materialien

- [1] C. F. Poole, S. K. Poole, *Chromatography Today*, 2. Aufl., Elsevier, Amsterdam (Niederlande), **1993**.
- [2] G. Guiochon, S. Golshan-Shirazi, A. M. Katti, *Fundamentals of Preparative and Nonlinear Chromatography*, Academic Press, Boston, MA, **1994**.
- [3] C. N. Satterfield, *Mass Transfer in Heterogeneous Catalysis*, MIT Press, Cambridge, MA, **1970**.
- [4] J. Bear, *Hydraulics of Groundwater*, McGraw-Hill, New York, NY, **1979**.
- [5] L. Lake, *Enhanced Oil Recovery*, Prentice-Hall, Clifton, NJ, **1992**.
- [6] U. D. Neudecker, *HPLC Columns*, Wiley, New York, NY, **1997**.
- [7] P. T. Callaghan, *Principles of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy*, Clarendon, Oxford, **1993**.
- [8] M. Sahimi, *Flow and Transport in Porous Media and Fractured Rocks*, VCH, Weinheim, **1995**.
- [9] U. Tallarek, E. Bayer, G. Guiochon, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 1494–1505.
- [10] E. O. Stejskal, J. E. Tanner, *J. Chem. Phys.* **1965**, *42*, 288–292.
- [11] P. T. Callaghan, A. Coy, D. MacGowan, K. J. Packer, F. O. Zelaya, *Nature* **1991**, *351*, 467–469.
- [12] J. Kärger, W. Heink, *J. Magn. Reson.* **1983**, *51*, 1–7.
- [13] D. J. Gunn, *Trans. Inst. Chem. Eng.* **1969**, *47*, T351–T359.
- [14] H. Guan, G. Guiochon, E. Davis, K. Gulakowski, D. W. Smith, *J. Chromatogr. A* **1997**, *773*, 33–51.
- [15] U. Tallarek, K. Albert, E. Bayer, G. Guiochon, *Am. Inst. Chem. Eng. J.* **1996**, *42*, 3041–3054.
- [16] M. Hallmann, K. K. Unger, M. Appel, G. Fleischer, J. Kärger, *J. Phys. Chem.* **1996**, *100*, 7729–7734.

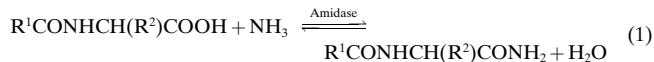
## C-terminale Amidierung von Peptiden – katalysiert von der aus dem Flavedo von Orangen stammenden Peptidamidase\*\*

Václav Čeřovský\* und Maria-Regina Kula\*

Für die biologische Aktivität vieler Peptidhormone ist eine  $\alpha$ -Amidgruppe am C-Terminus der Peptidkette essentiell.<sup>[1]</sup> Üblicherweise werden amidierte Peptide durch Festphasensynthese an Benzhydrylamin-Harzen hergestellt oder durch Ammonolyse von C-terminalen Peptidestern, die über konventionelle Peptidsynthesen zugänglich sind. Mit molekulargenetischen Methoden (Rekombinationstechnik) können heute längere Peptide durch Fermentation hergestellt werden. Den Produkten fehlt allerdings die C-terminale Amidgruppe. Wird die Peptidsynthese in einem rekombinanten Wirt mit einer chemischen Modifikation am C-Terminus kombiniert, ist das Schützen aller funktionellen Gruppen an den Peptidseitenketten erforderlich. Daher ist die Entwicklung einer enzymatischen Methode zur Umsetzung der C-terminalen Carboxygruppe eines Peptids zu einer  $\alpha$ -Amidgruppe wünschenswert.

Die enzymatische Amidierung von Peptiden mit Ammoniak als Nucleophil ist selten beschrieben worden.<sup>[2]</sup> Kurze Modellepeptide und Aminosäurederivate wurden durch Protease-katalysierte Ammonolyse der zugehörigen Ester amidiert.<sup>[3, 4]</sup> Zwar sind enzymatische Methoden vorteilhaft in Peptidsynthesen,<sup>[5]</sup> doch werden Proteasen nur in begrenztem Umfang zur Amidierung eingesetzt – vor allem wegen der Gefahr der unerwünschten Produkt-Proteolyse. Wir haben 1990 ein Enzym mit ungewöhnlichen Eigenschaften isoliert, das Peptidamide regioselektiv am C-Terminus hydrolysiert, ohne Peptidbindungen oder Amidfunktionen in der Seitenkette anzugreifen.<sup>[6]</sup> Das Enzym wurde aus dem Flavedo von Orangenschalen isoliert und als eine Peptidamidase charakterisiert.<sup>[7]</sup> Wegen seiner vielfältigen Substraterkennungsmöglichkeiten ist das Enzym vielseitig einsetzbar beim Schützen von  $\alpha$ -Carboxygruppen in enzymatischen Peptidsynthesen.<sup>[5]</sup>

Unser Ziel war es, die Peptidamidase zur Katalyse der Umkehrreaktion einzusetzen, der C-terminalen Amidierung von Peptiden (Gl. (1); R<sup>1</sup>: Aminosäure- oder Peptidrest; R<sup>2</sup>: Seitenkette einer  $\alpha$ -Aminosäure), zumal diese Reaktion noch



[\*] Dr. V. Čeřovský

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry  
Czech Academy of Sciences  
Flemingovo 2, 166 10 Prag 6 (Tschechische Republik)  
Fax: (+420) 2-24310090  
E-mail: cerovsky@uochb.cas.cz

Prof. Dr. M.-R. Kula  
Institut für Enzymtechnologie der Universität Düsseldorf  
Forschungszentrum Jülich, D-52428 Jülich  
Fax: (+49) 2461-612490  
E-mail: M.-R.Kula@fz-juelich.de

[\*\*] Diese Arbeit wurde gefördert von der Alexander-von-Humboldt-Stiftung (Stipendium für V. Č.) und der Forschungsagentur der Tschechischen Republik (Az 203/95/0014).