

aus Säugetieren, demonstriert. Mit dieser Methode sollten weitere O-phosphorylierte und O-glycosyierte Peptidkonjugate zugänglich sein, deren Untersuchung zu neuen Erkenntnissen im Bereich der bioorganischen Chemie und der Biologie führen sollte.

Eingegangen am 21. März 1996 [Z.8954]

**Stichworte:** Enzyme · Glycopeptide · Peptide · Schutzgruppen

- [1] a) T. Hunter, M. Karin, *Cell* **1992**, *70*, 375; b) A. Levitzki, *Eur. J. Biochem.* **1994**, *226*, 1; c) P. J. Casey, *Science* **1995**, *268*, 221; d) S. E. Egan, R. A. Weinberg, *Nature* **1993**, *365*, 781; e) M. S. Boguski, F. McCormick, *Nature* **1993**, *366*, 643.
- [2] Übersichtsartikel: A. J. Bridges, *Chemtracts Org. Chem.* **1995**, *8*, 73.
- [3] G. W. Hart, W. G. Kelly, M. A. Blomberg, E. P. Roquemore, L.-Y. D. Dong, L. Kreppel, T.-Y. Chou, D. Snow, K. Greis, *Glyco- and Cellbiology*, Springer, Heidelberg, **1994**, zit. Lit.
- [4] W. G. Kelly, M. E. Dahmus, G. W. Hart, *J. Biol. Chem.* **1993**, *268*, 10416.
- [5] J. W. Perich in *Peptides and Protein Phosphorylation* (Hrsg.: B. E. Kemp), CRC Press, **1990**, S. 289.
- [6] Übersichtsartikel: H. Kunz, *Angew. Chem.* **1987**, *99*, 297; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1987**, *26*, 294.
- [7] Übersichtsartikel: H. Waldmann, D. Sebastian, *Chem. Rev.* **1994**, *94*, 911.
- [8] Synthese eines glycosylierten Analogons von **2**: E. Meinjhanss, A. Vargas-Berenguel, M. Meldal, H. Paulsen, K. Bock, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **1995**, 2165.
- [9] a) H. Waldmann, E. Nägele, *Angew. Chem.* **1995**, *107*, 2425; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1995**, *34*, 2259; b) H. Waldmann, M. Schelhaas, *ibid.* **1996**, *108*, 82 bzw. **1996**, *35*, 106; c) H. Waldmann, E. Nägele, M. Schelhaas, *Bioorg. Med. Chem.* **1996**, im Druck.
- [10] **3** wurde aus PhAcOZ-Ala-OH und H-Leu-OrBu durch Kupplung mit *N*-Ethoxycarbonyl-2-ethoxy-1,2-dihydrochinolin ohne nachweisbare Racemisierung (HPLC, NMR) in 94% Ausbeute erhalten. PhAcOZ-geschützte Aminosäuren können einfach aus *p*-Phenylacetoxymethylchlorformat und *N,O*-Bis(trimethylsilyl)aminosäuren aufgebaut werden. D. R. Bolin, I. I. Sytu, F. Humiec, J. Meienhofer, *Int. J. Peptide Protein Res.* **1989**, *33*, 353, zit. Lit.
- [11] T. Pohl, H. Waldmann, *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 2963, zit. Lit.
- [12] G. Arsequell, L. Krippner, R. A. Dwek, S. Y. C. Wong, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1994**, 2383.
- [13] S. Friedrich-Bohnitschek, H. Waldmann, H. Kunz, *J. Org. Chem.* **1989**, *54*, 751.
- [14] **16** wurde in 93% Ausbeute aus PhAcOZ-Pro-Thr-OAll durch selektive Allylesterspaltung mit  $[Pd(Ph_3P)_4]/Morpholin$  erhalten.
- [15] D. Sebastian, H. Waldmann, unveröffentlichte Ergebnisse. Für die Spaltung von Heptylestern in Glycopeptiden mit einer anderen Lipase siehe: P. Braun, H. Waldmann, H. Kunz, *Bioorg. Med. Chem.* **1993**, *1*, 197.
- [16] **21**: Farbloser, amorpher Feststoff;  $R_f$ : 0.37 (Chloroform/Methanol, 6/1 (v/v));  $[\alpha]_D^{25} = -65.4$  ( $c = 1$  in MeOH);  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz,  $CD_3OD$ , 25 °C, TMS):  $\delta = 6.06 - 5.88$  (m, 3H,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.43–5.08 (m, 8H, 3H,  $3'\text{-H}$ ,  $\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.01 (dd,  $J(3,4) = J(4,5) = J(3',4') = J(4',5') = 9$  Hz, 2H, 4H, 4'-H), 4.78 (d,  $J(1,2) = 8.5$  Hz, 1H, 1-H), 4.73 (d,  $J(1',2') = 8.5$  Hz, 1H, 1'-H), 4.71 (t,  $J = 6$  Hz, 1H,  $\alpha\text{-CH Ser}$ ), 2.40–2.19 (m, 2H,  $\beta\text{-CH}_2$ , Pro,  $\beta\text{-CH}_2$ , Pro), 2.16–1.85 (m, 30H,  $\beta\text{-CH}_2$ , Pro,  $\beta\text{-CH}_2$ , Pro,  $\gamma\text{-CH}_2$ , Pro,  $\gamma\text{-CH}_2$ , Pro,  $\text{COCH}_3$ ), 1.46 (s, 9H,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.19, 1.14 (d,  $J = 6$  Hz, 3H,  $\gamma\text{-CH}_3$ , Thr, zwei Rotamere); FAB-MS (Glycerin):  $m/z$ : 1533.602 [ $M^+ + \text{H}$ ].
- [17] Y. Hayakawa, H. Kato, M. Uchiyama, H. Kajino, R. Noyori, *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 2402.
- [18] P. Schultheiss-Reimann, H. Kunz, *Angew. Chem.* **1983**, *95*, 64; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1983**, *22*, 62.
- [19] H. Kunz, *Pure Appl. Chem.* **1993**, *65*, 1223.
- [20] a) G. Shapiro, D. Büchler, C. Dalvit, M. Fernandez, B. Gomez-Lor, E. Pombo-Villar, U. Strauss, R. Swoboda, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1996**, *4*, 409; b) J. R. Vercellotti, R. Fernandez, C. J. Chang, *Carbohydr. Res.* **1974**, *5*, 97.

## Modelle für Reaktionen am aktiven Zentrum der Galactose-Oxidase\*\*

Jason A. Halfen, Victor G. Young, Jr. und William B. Tolman\*

Vor kurzem wurden Verbände aus organischen, freien Radikalen und benachbarten Metallzentren als wichtiger Bestandteil der aktiven Zentren von Enzymen, die Multielektronen-Redoxreaktionen katalysieren<sup>[1]</sup>, identifiziert. Ein faszinierendes Beispiel eines funktionell bedeutsamen derartigen „Metall-Radikal-Paars“ liegt bei der Galactose-Oxidase (GAO)<sup>[2]</sup> vor, einem Pilz-Enzym, dessen aktives Zentrum ein Kupferatom enthält, welches die Zwei-Elektronen-Oxidation von Alkoholen zu Aldehyden ermöglicht. Durch biophysikalische Untersuchungen<sup>[2a, 3]</sup>, einschließlich Kristallstrukturanalysen<sup>[4]</sup>, konnte die Struktur des aktiven Zentrums aufgeklärt (Abb. 1, Einschub),

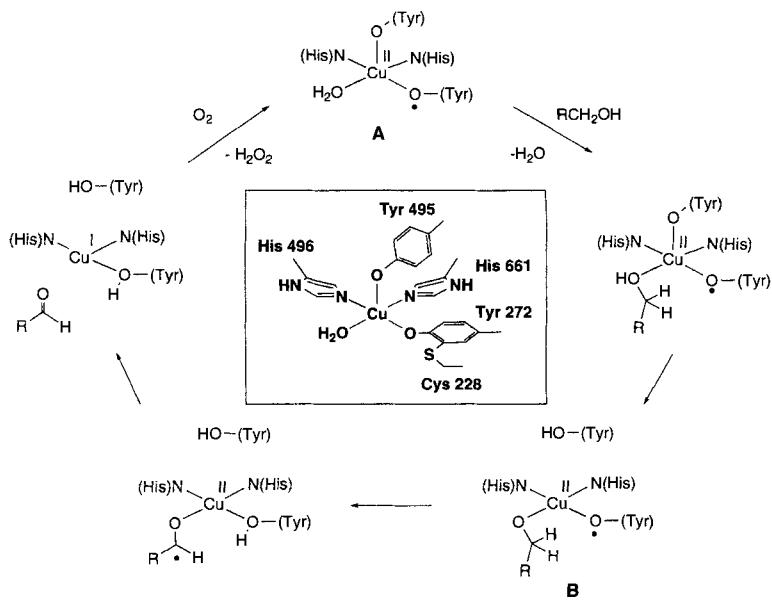


Abb. 1. Schematische Darstellung des kristallographisch charakterisierten aktiven Zentrums der Galactose-Oxidase bei pH 7.0 (Einschub) [4], sowie postulierter Mechanismus der enzymvermittelten Alkoholoxidation [2].

und die elektronischen und strukturellen Eigenschaften der aktiven Form beschrieben werden. Es wird angenommen, daß diese Form (Struktur A, Abb. 1) ein Cu<sup>II</sup>-Ion enthält, welches stark an ein Radikal koordiniert ist, das sich an einem äquatorial gebundenen, kovalent S-Cys-modifizierten Tyrosinatoliganden befindet und durch  $\pi$ -Stapelwechselwirkungen zu einem benachbarten Tryptophanrest (nicht abgebildet) stabilisiert wird. Das Cu<sup>II</sup>-Ion ist zu Zwei-Elektronen-Redoxreaktionen befähigt, und der Komplex A mit Kopplung von freiem Radikal und Kupferzentrum soll sich unter Deprotonierung des Alkoholsubstrates

[\*] Prof. W. B. Tolman, J. A. Halfen, Dr. V. G. Young, Jr.  
Department of Chemistry  
University of Minnesota  
207 Pleasant Street S.E., Minneapolis, MN 55455 (USA)  
Telefax: Int. + 612/624-7029  
E-mail: tolman@chemsun.chem.umn.edu

[\*\*] Diese Arbeit wurde von den National Institutes of Health (GM 47365), der National Science Foundation (National Young Investigator Award für W. B. T.) sowie der Alfred P. Sloan und der Camille and Henry Dreyfus Foundation (Stipendium für W. B. T.) gefördert. J. A. H. dankt der University of Minnesota für ein Doktorandenstipendium. Eines der Diffraktometer wurde teilweise von der National Science Foundation finanziert (CHE-9413114).

durch den axialen Tyrosinatoliganden in die Zwischenverbindung **B** umwandeln<sup>[2a]</sup>. Die anschließende Oxidation des Alkohols wird vermutlich über eine Wasserstoffatomabstraktion durch das benachbarte Tyrosylradikal eingeleitet<sup>[5]</sup>, gefolgt von einem Elektronentransfer auf das Kupferatom unter der Bildung des Aldehydes sowie eines reduzierten, Kupfer(I)-haltigen, aktiven Zentrums (Abb. 1)<sup>[6]</sup>. Eine Zwei-Elektronen-Oxidation durch  $O_2$  schließt den hypothetischen Katalysezyklus.

Unser Ziel ist, anhand geeigneter Modellkomplexe diesen Mechanismusvorschlag zu bestätigen. Ergebnisse erster Molecular-Modeling-Studien waren die mögliche Existenz von Phenolat-Cu<sup>II</sup>-Einheiten, wie sie bei der inaktiven Form von GAO (der Ein-Elektronen-reduzierten Form von **A**)<sup>[7]</sup> auftreten, und die Fähigkeit freier, Radikal-gekoppelter Kupferkomplexe zur Oxidation von Alkoholen, wenngleich unter Verwendung eines abiotischen Radikal-Cofaktors (2,2,6,6-Tetramethylpiperidin-1-yloxy, TEMPO)<sup>[8]</sup>. Wir berichten nun über die Charakterisierung synthetischer Analoga von **A** und über einen neuen gemischten Alkoholat-Phenolat-Cu<sup>II</sup>-Komplex, welcher der reduzierten Form von **B** nachempfunden ist. Ein-Elektronen-Oxidation der letztgenannten Verbindung bewirkt die Aldehydbildung.

Da Versuche zur Synthese von funktionellen Phenoxyl-Radikal-Cu<sup>II</sup>-Paaren durch Inaktivierungsreaktionen in den *ortho*- und *para*-Positionen des aromatischen Ringes vereitelt würden,

synthetisierten wir die geschützten Monophenolatoliganden **L**<sup>1</sup> und **L**<sup>2</sup>. Deprotonierung mit NaH, gefolgt von der Umsetzung mit dem geeigneten wasserfreien Cu<sup>II</sup>-Salz, ergab die tiefvioletten Komplexe [LCuX] (**1**: L = **L**<sup>1</sup>, X = Cl; **2**: L = **L**<sup>2</sup>,

X = Cl, **3**, L = **L**<sup>2</sup>, X = O<sub>3</sub>SCF<sub>3</sub>), von denen **1** mit Kristallstrukturanalyse strukturell charakterisiert werden konnte (Abb. 2, oben)<sup>[9]</sup>. Der Komplex ist quadratisch-pyramidal<sup>[10]</sup>, die Chloro- und Phenolatoliganden befinden sich in den *cis*-äquatorialen Positionen. Wie spektroskopische Untersuchungen zeigen, sind **2** und **3** wahrscheinlich analog aufgebaut<sup>[11]</sup>. Der stabilisierende Effekt der *tert*-Butylgruppen<sup>[12]</sup> zeigt sich im einzigartigen elektrochemischen Verhalten von **2** und **3**. Beide zeigen eine reversible Ein-Elektronen-Oxidationswelle in ihrem Cyclovoltammogramm (CV), aufgenommen mit 0.25 M Bu<sub>4</sub>NPF<sub>6</sub> in CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> (**2**: E<sub>1/2</sub> = +0.59 V, ΔE<sub>p</sub> = 86 mV; **3**: E<sub>1/2</sub> = +0.72 V, ΔE<sub>p</sub> = 96 mV; beide gegen SCE bei 100 mVs<sup>-1</sup>). Die Ein-Elektronen-Oxidation der violetten, ESR-aktiven Verbindung **3** konnte bei -40 °C elektrochemisch durch potentialkontrollierte Elektrolyse bei +1.0 V gegen SCE oder chemisch durch Umsetzung mit einer äquimolaren Menge (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>[Ce(NO<sub>3</sub>)<sub>6</sub>] in CH<sub>3</sub>CN erreicht werden. Beide Methoden führen zur Bildung einer neuen, grünen Verbindung. In Einklang mit der cyclovoltammetrisch ermittelten elektrochemischen Reversibilität von **3** wird durch Reaktion mit äquimolaren Mengen [Cp<sub>2</sub>Fe] aus dem grünen Komplex Verbindung **3** quantitativ unter Bildung von [Cp<sub>2</sub>Fe]<sup>+</sup> zurückgebildet. Die grüne, oxidierte Verbindung zeigt kein ESR-Signal, ihr Absorptionsmaximum liegt bei 410 nm (ε = 4000 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>) ähnlich dem von aktivem GAO (445 nm, ε = 5400 M<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>)<sup>[13]</sup> und von vielen 2,4,6-trisubstituierten Phenoxylradikalen<sup>[14]</sup>. Diese Ergebnisse stützen die Zuordnung der grünen, oxidierten Verbindung **3**<sup>+</sup> als magnetisch gekoppelten Phenoxyl-Cu<sup>II</sup>-Komplex, ähnlich dem GAO-Komplex **A**<sup>[5]</sup>.

Zur Nachahmung der Enzym-Substrat-Wechselwirkung setzten wir **2** mit NaOCH<sub>2</sub>Ph um. L<sup>2</sup>Cu(OCH<sub>2</sub>Ph) **4** wurde dabei in

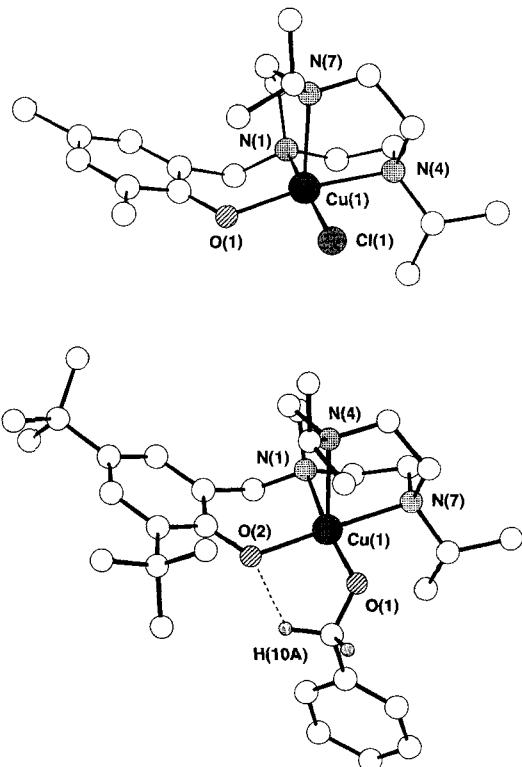
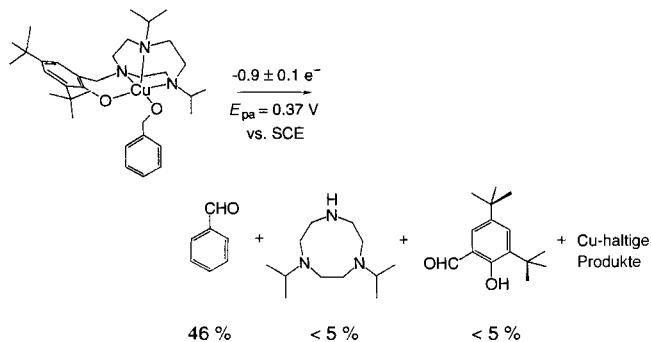


Abb. 2. Struktur von **1** (oben) und **4** (unten) im Kristall. Ausgewählte Bindungslängen [Å] und -winkel [°] für **1**: Cu(1)-O(1) 1.916(5), Cu(1)-N(1) 2.069(5), Cu(1)-N(4) 2.148(6), Cu(1)-N(7) 2.291(6), Cu(1)-Cl(1) 2.286(2), Cl(1)-Cu(1)-O(1) 90.3(2), Cl(1)-Cu(1)-N(1) 171.4(2), Cl(1)-Cu(1)-N(4) 92.4(2), Cl(1)-Cu(1)-N(7) 102.7(2), O(1)-Cu(1)-N(1) 92.8(2), O(1)-Cu(1)-N(4) 167.4(2), O(1)-Cu(1)-N(7) 109.3(2), N(1)-Cu(1)-N(4) 83.0(2), N(1)-Cu(1)-N(7) 83.9(3), N(4)-Cu(1)-N(7) 82.2(2). Ausgewählte Bindungslängen [Å] und -winkel [°] für **4**: Cu(1)-O(1) 1.893(1), Cu(1)-O(2) 1.931(1), Cu(1)-N(1) 2.082(2), Cu(1)-N(4) 2.397(2), Cu(1)-N(7) 2.140(2), N(1)-Cu(1)-N(4) 80.45(6), N(1)-Cu(1)-N(7) 82.89(6), N(4)-Cu(1)-N(7) 82.29(6), N(1)-Cu(1)-O(1) 169.80(6), N(1)-Cu(1)-O(2) 92.88(6), O(1)-Cu(1)-N(7) 88.23(6), O(1)-Cu(1)-O(2) 94.85(6), O(1)-Cu(1)-N(4) 103.39(6), N(4)-Cu(1)-O(2) 107.94(6), N(7)-Cu(1)-O(2) 168.21(6).

Form grüner, zur Röntgenstrukturanalyse geeigneter Kristalle (Abb. 2, unten)<sup>[9, 11]</sup>, erhalten. Die *cis*-äquatoriale Anordnung des Alkoholato- und des Phenolatoliganden in dem quadratisch-pyramidalen Komplex<sup>[10]</sup> bildet die postulierte Position dieser Gruppen in GAO während der Umsetzung nach. Bemerkenswert an **4** sind darüber hinaus der kurze Abstand Cu<sup>II</sup>-Alkoholatoligand (Cu(1)-O(1) = 1.893(1) Å) sowie der Abstand zwischen dem Benzylwasserstoffatom (H(10A)) und dem Phenolatsauerstoffatom (O(2)), der 2.36 Å beträgt. Dieser legt eine O · · · H-C-Wechselwirkung mit funktioneller Bedeutung<sup>[16]</sup> nahe, da der postulierten Wasserstoffatomabstraktion im ersten Schritt der Alkoholoxidation eine solche Anordnung vorangehen kann. Tatsächlich zeigt die cyclovoltammetrische Untersuchung von **4** eine irreversible Oxidationswelle (E<sub>pa</sub> = +0.37 V gegen SCE in CH<sub>3</sub>CN). Präparative Elektrolyse bei +0.5 V führt zur Abgabe von 0.9 ± 0.1 e<sup>-</sup> mol<sup>-1</sup> je Komplex, einhergehend mit dem Abklingen der ESR-Aktivität und einer Abschwächung der UV-VIS-Absorption. <sup>1</sup>H-NMR- und GC/MS-Analyse der Lösung, nach Entfernen der Kupferverbindung, zeigte die Bildung von Benzaldehyd (46 % bezogen auf **4**) und in geringen Mengen von 1,4-Diisopropl-1,4,7-triazacyclonan<sup>[17]</sup> sowie 4,6-Di-*tert*-butyl-2-formylphenol (Schema 1).

Die Gesamtreaktion, in der unter Ein-Elektronen-Oxidation aus **4** Benzaldehyd und vermutlich Cu<sup>I</sup>-haltige Nebenprodukte gebildet werden, verläuft analog der GAO-vermittelten Oxidation. In Analogie zum elektrochemischen Verhalten von **2** und **3**



Schema 1. SCE = gesättigte Kalomelektrode.

nehmen wir die Bildung von  $4^+$  aus **4** durch die Elektrolyse an.  $4^+$  ist ein reaktiver Komplex mit Kopplung zwischen freiem Radikal und Kupferzentrum, der gebundenes Substrat enthält, entsprechend dem Enzymintermediat **B**. Die Abstraktion des Wasserstoffatoms H(10A) durch das Phenoxylsauerstoffatom O(2) würde die Benzaldehydbildung einleiten, Abstraktion aus der aktivierte Benzylposition der Phenoxygruppe hingegen die Bildung der Nebenprodukte<sup>[14]</sup>. Obgleich sowohl inter- als auch intramolekulare Reaktionswege denkbar sind, betrachten wir die interne Bereitstellung des Wasserstoffatoms für das Phenoxylsauerstoffatom durch den Benzylalkoholatrest als einen sehr vielversprechenden Weg der Alkoholoxidation, nicht zuletzt auch wegen der kristallographisch bestimmten O · · C-H-Wechselwirkung von **4**.

Wir haben Modelle für postulierte Schüsselintermediate bei der durch ein gekoppeltes System aus freiem Radikal und Kupferatom katalysierten Alkoholoxidation gefunden. Dieses System befindet sich im aktiven Zentrum der GAO. Zu den wichtigen Resultaten zählt die Identifizierung von Verbindungen, die aus der Ein-Elektronen-Oxidation von Phenolato-Cu<sup>II</sup>-Komplexen hervorgehen, welche die aktive Form des Enzyms nachbilden (**A**), die strukturelle Charakterisierung eines gemischten Phenolato-Alkoholato-Komplexes, der das reduzierte Enzym-Substrat-Addukt (reduziertes **B**) nachahmt, sowie die Aldehydbildung aus dem Phenolato-Alkoholato-Komplex durch Ein-Elektronen-Oxidation, eine Reaktion, die die GAO-Funktion nachahmt.

### Experimentelles

Alle Verbindungen ergaben korrekte Massenspektren und C,H,N-Analysen. Die Kupferkomplexe wurden unter Inertgas hergestellt.

**L<sup>1</sup>:** Eine Lösung der Mannich-Base von 1,4-Diisopropyl-1,4,7-triazacyclonanon (4.95 mmol) [17] und 2,4-Dimethylphenol (5.16 mmol) in Methanol wurde 12 h unter Rückfluß erhitzt [18]. Zugabe von Wasser zur Reaktionsmischung führte zur Abscheidung einer farblosen ölichen Masse, die beim Stehenlassen kristallisierte. Ausbeute: 1.22 g (71%). <sup>1</sup>H-NMR (500 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 6.81 (s, 1H), 6.60 (s, 1H), 3.73 (s, 2H), 3.02–2.96 (m, 4H), 2.88 (sept,  $J$  = 6.5 Hz, 2H), 2.67 (t,  $J$  = 5.0 Hz, 4H), 2.43 (s, 4H), 2.19 (s, 3H), 2.17 (s, 3H), 0.95 (d,  $J$  = 6.5 Hz, 12H); <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H}-NMR (125 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 154.2, 130.0, 126.8, 126.4, 124.5, 121.9, 60.8, 54.8, 53.6, 53.4, 52.9, 20.4, 18.3, 15.6.

**L<sup>2</sup>** wurde analog aus 2,4-Di-*tert*-butylphenol in 90% Ausbeute synthetisiert. Daten für **L<sup>2</sup>**: <sup>1</sup>H-NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 7.17 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 1H), 6.81 (d,  $J$  = 2.4 Hz, 1H), 3.76 (s, 2H), 3.04–2.85 (überlagertes Multiplett und Septett, 6H), 2.68 (t,  $J$  = 4.8 Hz, 4H), 2.46 (s, 4H), 1.42 (s, 9H), 1.28 (s, 9H), 0.97 (d,  $J$  = 6.6 Hz, 12H); <sup>13</sup>C{<sup>1</sup>H}-NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>):  $\delta$  = 155.0, 139.6, 135.3, 123.2, 122.4, 122.1, 61.5, 54.6, 54.1, 53.7, 53.1, 34.8, 34.1, 31.7, 29.6, 18.4.

**1–3:** Das Natrium-Salz von **L<sup>1</sup>** (durch Umsetzung von **L<sup>1</sup>** (0.21 g, 0.60 mmol) mit NaH in THF) und wasserfreies CuCl<sub>2</sub> (0.081 g, 0.60 mmol) wurden 2 h in THF (5 mL) gerührt. Die Mischung wurde über Celite filtriert und das Filtrat im Vakuum eingengeht. Umkristallisation des Rückstandes aus CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Pentan ergab 1 als violette Kristalle, geeignet zur Kristallstrukturanalyse: 0.189 g (70%). Analog wurde 2 aus **L<sup>2</sup>** und wasserfreiem CuCl<sub>2</sub> in 86% Ausbeute erhalten, Komplex 3 wurde auf ähnlichen Weg aus **L<sup>2</sup>** und Cu(O<sub>3</sub>SCF<sub>3</sub>)<sub>2</sub> in 85% Ausbeute erhalten.

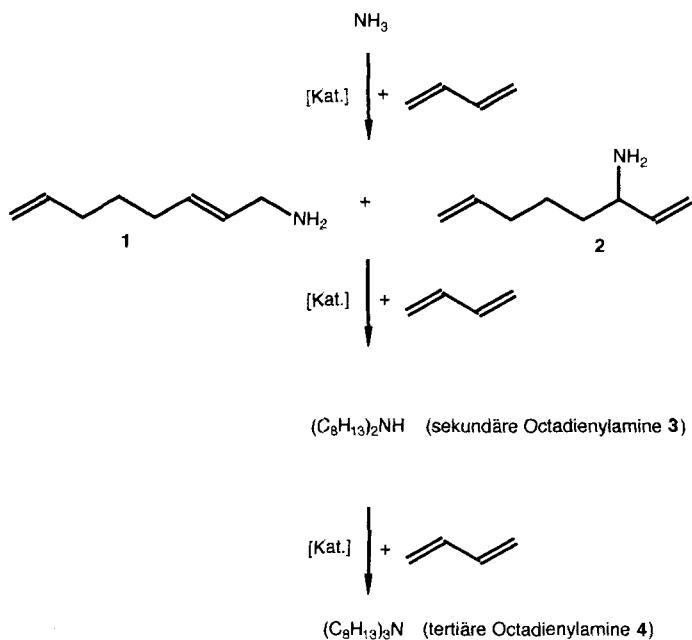
**4:** Komplex **2** (0.163 g, 0.31 mmol) und NaOCH<sub>2</sub>Ph (0.062 g, 0.48 mmol) wurden in THF 1 h gerührt. Nach Zugabe von Pentan (10 mL) wurde die grüne Lösung über Celite filtriert. Einengen des Filtrats und mehrere Tage Lagerung bei –20 °C führte zur Abscheidung des Produktes in Form kleiner, grüner Kristalle, 0.050 g (27%). Umkristallisation aus Toluol/Pentan bei 20 °C ergab Kristalle der Zusammensetzung **4** · 0.5 Toluol, geeignet für die Kristallstrukturanalyse.

Eingegangen am 11. Januar, veränderte Fassung am 18. März 1996 [Z 8716]

**Stichworte:** Galactose-Oxidase · Kupferverbindungen · Oxidationen · Radikale

- [1] a) J. A. Stubbe, *Annu. Rev. Biochem.* **1989**, *58*, 257–285; b) J. Z. Pedersen, A. Finazzi-Agro, *FEBS Lett.* **1993**, *325*, 53–58.
- [2] a) J. W. Whittaker in *Metalloenzymes Involving Amino Acid Residue and Related Radicals*, Vol. 30 (Hrsg.: H. Sigel, A. Sigel), Marcel Dekker, New York, **1994**, S. 315–360; b) P. F. Knowles, N. Ito in *Perspectives in Bio-inorganic Chemistry*, Vol. 2, Jai Press, London, **1994**, S. 207–244.
- [3] a) A. J. Baron, C. Stevens, C. Wilmet, K. D. Seneviratne, V. Blakeley, D. M. Dooley, S. E. V. Phillips, P. F. Knowles, M. J. McPherson, *J. Biol. Chem.* **1994**, *269*, 25095–25105; b) P. F. Knowles, R. D. Brown III, S. H. Koenig, S. Wang, R. A. Scott, M. A. McGuirl, D. E. Brown, D. M. Dooley, *Inorg. Chem.* **1995**, *34*, 3895–3902.
- [4] a) N. Ito, S. E. V. Phillips, C. Stevens, Z. B. Ogel, M. J. McPherson, J. N. Keen, K. D. S. Yadav, P. F. Knowles, *Nature* **1991**, *350*, 87–90; b) N. Ito, S. E. V. Phillips, C. Stevens, Z. B. Ogel, M. J. McPherson, J. N. Keen, K. D. S. Yadav, P. R. Knowles, *Faraday Discuss. Chem. Soc.* **1992**, *93*, 75–84; c) N. Ito, S. E. V. Phillips, K. D. S. Yadav, P. F. Knowles, *J. Mol. Biol.* **1994**, *238*, 794–814.
- [5] Eine alternative Route unter Berücksichtigung der Deprotonierung durch den gestapelten Tryptophanrest wurde ebenfalls vorgeschlagen [4b].
- [6] a) B. P. Branchaud, M. P. Montague-Smith, D. J. Kosman, F. R. McLaren, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 798–800; b) K. Clark, J. E. Penner-Hahn, M. M. Whittaker, J. W. Whittaker, *ibid.* **1990**, *112*, 6433–6434; c) R. M. Wachter, B. P. Branchaud, *ibid.* **1996**, *118*, 2782–2789.
- [7] a) U. Rajendran, R. Viswanathan, M. Palaniandavar, M. Lakshminarayanan, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1992**, 3563–3564; b) R. Uma, R. Viswanathan, M. Palaniandavar, M. Lakshminarayanan, *ibid.* **1994**, 1219–1226; c) H. Adams, N. A. Bailey, D. E. Fenton, Q. He, *Inorg. Chim. Acta* **1994**, *215*, 1–3; d) H. Adams, N. A. Bailey, C. O. R. de Barbarin, D. E. Fenton, Q.-Y. He, *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* **1995**, 2323–2331; e) M. Whittaker, Y. Chuang, J. Whittaker, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 10029–10035; f) N. Kitajima, K. Whang, Y. Moro-oka, A. Uchida, Y. Sasada, *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* **1986**, 1504–1505; g) M. M. Whittaker, W. R. Duncan, J. W. Whittaker, *Inorg. Chem.* **1996**, *35*, 382–386.
- [8] J. Laugier, J.-M. Latour, A. Caneschi, P. Rey, *Inorg. Chem.* **1991**, *30*, 4474–4477.
- [9] Kristallstrukturanalyse von **1**: Violetter, blockartiger Kristall (0.50 × 0.50 × 0.20 mm); C<sub>21</sub>H<sub>36</sub>ClCuN<sub>3</sub>O,  $M_r$  = 445.53, monoklin, Raumgruppe *P2<sub>1</sub>/c*,  $a$  = 15.18(4),  $b$  = 7.538(1),  $c$  = 20.58(5) Å,  $\beta$  = 109.1(1)°,  $V$  = 2225(8) Å<sup>3</sup>,  $Z$  = 4 bei 298(2) K;  $\rho_{\text{ber.}}$  = 1.330 g cm<sup>−3</sup>;  $2\theta_{\text{max.}}$  = 50.00°;  $\mu_{\text{Mo}}$  = 11.19 cm<sup>−1</sup>. Die Struktur wurde mit Direkten Methoden gelöst. Die Wasserstoffatome wurden positioniert und nicht verfeinert. Semiempirische Absorptionskorrektur (DIFABS) wurde durchgeführt. Verfeinerung nach dem Volle-Matrix-Kleinste-Fehlerquadrate Verfahren gegen  $F$  mit 4319 Reflexen [ $I$  > 2  $\sigma(I)$ ] und 245 Variablen, endgültige  $R$ -Werte:  $R(F)$  = 0.071 und  $wR(F)$  = 0.096. Maximum und Minimum der Restelektronendichteverteilung: 0.72 bzw. 1.03 e<sup>−</sup> Å<sup>−3</sup>. Die Daten wurden auf einem Enraf-Nonius CAD-4 Diffraktometer aufgenommen, für die Berechnungen wurde das TEXSAN-Softwarepaket verwendet. Kristallstrukturanalyse von **4** · 0.5 Toluol: grüner blockartiger Kristall (0.50 × 0.50 × 0.25 mm); C<sub>37</sub>.50H<sub>59</sub>ClCuN<sub>3</sub>O<sub>2</sub>,  $M_r$  = 647.42, monoklin, Raumgruppe *P2<sub>1</sub>/n*,  $a$  = 17.5316(4),  $b$  = 9.3694(3),  $c$  = 22.1187(5) Å,  $\beta$  = 91.444(1)°,  $V$  = 3632.1(2) Å<sup>3</sup>,  $Z$  = 4 bei 173(2) K;  $\rho_{\text{ber.}}$  = 1.184 g cm<sup>−3</sup>;  $2\theta_{\text{max.}}$  = 50.18°;  $\mu_{\text{Mo}}$  = 6.36 cm<sup>−1</sup>. Die Struktur wurde mit Direkten Methoden gelöst; Nicht-Wasserstoffatome wurden anisotrop verfeinert, die Wasserstoffatome positioniert und nach dem Reitermodell unter Berücksichtigung von Temperaturfaktoren verfeinert. Semiempirische Absorptionskorrektur wurde durchgeführt. Ein fehlgeordnetes Toluolmolekül wurde an einem Inversionszentrum lokalisiert, die Besetzungswahrscheinlichkeit für die Fehlordnung mit 0.5 angenommen. Verfeinerung nach dem Volle-Matrix-kleinste-Fehlerquadrate-Verfahren gegen  $F^2$  mit 6402 Reflexen [ $I$  > 2  $\sigma(I)$ ] und 495 Variablen, endgültige  $R$ -Werte:  $R1$  = 0.0359 und  $wR2$  = 0.0865. Maximum und Minimum der Restelektronendichteverteilung: 0.264 bzw. –0.369 e<sup>−</sup> Å<sup>−3</sup>. Die Daten wurden auf einem Siemens-SMART-System aufgenommen und die Berechnungen unter Verwendung des SHELXTL V5.0 Paketes durchgeführt. Die kristallographischen Daten (ohne Strukturfaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Strukturen wurden als „supplementary publication no. CCDC-179-44“ beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse angefordert werden: The Director, CCDC, 12 Union Road, CB2 1EZ (Telefax: Int. + 1223/336-033; E-mail: teched@chemcrys.cam.ac.uk).

- [10] Für **1** und **2** ist  $\tau = 0.07$  bzw. 0.03, mit 0 oder 1, entsprechend einer idealen quadratisch-pyramidalen bzw. trigonal-bipyramidalen Geometrie: A. W. Addison, T. N. Rao, J. Reedijk, J. van Rijn, G. C. Verschoor, *J. Chem. Soc. Dalton Trans.* **1984**, 1349–1356.
- [11] **1**: EPR (1:1  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /Toluol, 77 K, 9.46 GHz):  $g_{\parallel} = 2.25$ ,  $A_{\perp} = 152$  G,  $g_{\perp} = 2.03$ ; UV/Vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ):  $\lambda_{\text{max}}(\epsilon) = 340$  ( $3.1 \times 10^3$ ), 520 ( $1.5 \times 10^3$ ), 710 nm (sh. 440). **2**: EPR (1:1  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /Toluol, 77 K, 9.46 GHz):  $g_{\perp} = 2.26$ ,  $A_{\parallel} = 153$  G,  $g_{\perp} = 2.04$ ; UV/Vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ):  $\lambda_{\text{max}}(\epsilon) = 350$  ( $3.0 \times 10^3$ ), 526 ( $1.2 \times 10^3$ ), 720 nm (sh. 400). **3**: EPR (1:1  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ /Toluol, 77 K, 9.46 GHz):  $g_{\parallel} = 2.25$ ,  $A_{\parallel} = 152$  G,  $g_{\perp} = 2.03$ ; UV/Vis ( $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ):  $\lambda_{\text{max}}(\epsilon) = 328$  ( $3.3 \times 10^3$ ), 532 ( $1.1 \times 10^3$ ), 696 nm (sh. 450). **4**: EPR (1:1 THF/Toluol, 77 K, 9.46 GHz):  $g_{\perp} = 2.26$ ,  $A_{\parallel} = 153$  G,  $g_{\perp} = 2.03$ ,  $g_x = 2.02$ ; UV/Vis (THF):  $\lambda_{\text{max}}(\epsilon) = 436$  (700), 760 nm (130).
- [12] Die Oxidation von **1** war irreversibel ( $E_{\text{pa}} = +0.71$  V vs. SCE bei 100 mV s<sup>-1</sup> mit 0.2 M  $\text{Bu}_4\text{NPF}_6$  in  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ).
- [13] M. M. Whittaker, J. W. Whittaker, *J. Biol. Chem.* **1988**, *263*, 6074–6080.
- [14] E. R. Altwicker, *Chem. Rev.* **1967**, *67*, 475–531.
- [15] Verbindungen mit Eisen-koordinierten Phenoxy-Radikalen: J. Hockertz, S. Steenken, K. Wieghardt, P. Hiidebrandt, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 11222–11230.
- [16] T. Steiner, W. Saenger, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 4540–4547, zit. Lit.
- [17] R. P. Houser, J. A. Halfen, V. G. Young, Jr., N. J. Blackburn, W. B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 10745–10746.
- [18] D. A. Moore, P. E. Fanwick, M. J. Welch, *Inorg. Chem.* **1989**, *28*, 1504–1506.



Schema 1. Telomerisation von Butadien und Ammoniak.

## Zweiphasenkatalyse: eine Strategie zur Vermeidung von Konsekutivreaktionen am Beispiel der Telomerisation von Butadien und Ammoniak\*\*

Thomas Prinz, Wilhelm Keim und Birgit Driessens-Hölscher\*

Flüssig/Flüssig-Zweiphasenverfahren bilden heute einen bedeutenden Anteil in der homogenen Katalyse<sup>[1–4]</sup> und haben den Durchbruch zur technischen Anwendung erreicht<sup>[5–7]</sup>. Auch die homogen katalysierte Telomerisation, darunter versteht man die Dimerisierung eines Dien unter gleichzeitiger Anlagerung eines Nucleophils, wurde in einigen Fällen auf Zweiphasensysteme übertragen<sup>[8–12]</sup>. Unter diesen Verfahren hat die Darstellung von 1,7-Octadienol ausgehend von Butadien und Wasser bereits industrielle Bedeutung erlangt<sup>[17]</sup>. Die katalytische Telomerisation von Butadien und Ammoniak ist bisher nur in einphasiger Arbeitsweise beschrieben worden<sup>[13–15]</sup> und führt zu den in Schema 1 gezeigten Produkten. Da die primären und die sekundären Octadienylamine **1**/**2** bzw. **3** nucleophiler sind als Ammoniak und deshalb schnell weiterreagieren, ist es nicht möglich, sie in guten Ausbeuten und Selektivitäten durch Telomerisation herzustellen. Selbst bei niedrigen Umsätzen werden die primären Octadienylamine **1** und **2** nur mit schlechten Selektivitäten gebildet (vgl. Tabelle 1, Nr. 1). Wenn es gelänge, diese Telomerisation so zu steuern, daß nur die Primärprodukte entstünden, so wären auf diesem Weg primäre Octadienylamine zugänglich. 2,7-Octadienylamin **1** ergibt nach Hydrierung das technisch bedeutsame *n*-Octylamin, das zur Herstellung von Weichspülern, Korrosionsinhibitoren und Flotationshilfsmitteln verwendet wird.

Wir berichten nun, daß die Octadienylamine **1** und **2** tatsächlich in einer katalytischen Zweiphasentelomerisation aus Butadien und Ammoniak selektiv synthetisiert werden können; wichtig ist, daß sie direkt nach ihrer Entstehung mit einem Lösungsmittel geeigneter Polarität aus der wässrigen Katalysatorphase extrahiert werden. So wird die Konsekutivreaktion in der wässrigen Katalysatorphase unterbunden. Dazu wird das Katalysatorsystem Palladiumacetat/tppts (Trinatriumsalz der 3,3',3"-Phosphantriylbenzolsulfonsäure) in Wasser gelöst. Als zweite Phase wird beispielsweise Toluol hinzugegeben, und anschließend werden Butadien und Ammoniak zudosiert. In Tabelle 1 wird die bekannte einphasige Verfahrensweise der hier

Tabelle 1. Telomerisation von Butadien und Ammoniak; Vergleich der einphasigen mit der zweiphasigen Verfahrensweise [a].

Nr.	Verfahren	Selektivitäten [%]			Verhältnis (1+2):3:4	Gesamtausbeute [%] [b]
		1+2	3	4		
1	einphasig	2	4	61	1:2:31	21
2	zweiphasig	31.5	25.5	1.5	21:17:1	24

[a] Versuchsbedingungen: einphasig:  $T = 100^\circ\text{C}$ ,  $t = 1$  h, Butadien:Ammoniak = 10:1, Pd:Butadien = 1:1000; 20 mL *tert*-Butylalkohol; Pd:PPH<sub>3</sub> = 1:3.4; zweiphasig:  $T = 100^\circ\text{C}$ ,  $t = 1$  h, Butadien:Ammoniak = 10:1, Pd:Butadien = 1:1000; H<sub>2</sub>O:CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> = 2:1; Pd:tppts = 1:4. [b] Gesamtausbeute bezogen auf Ammoniak.

beschriebenen zweiphasigen Verfahrensweise gegenübergestellt. Führt man die Telomerisation einphasig in *tert*-Butylalkohol (Reaktionszeit 1 h) durch, so erhält man bei einem Gesamtumsatz von 21 % die tertiären Amine **4** als Hauptprodukt mit einer Selektivität von 61 % (Tabelle 1, Nr. 1). Die zweiphasige Verfahrensweise führt bei sonst gleichen Reaktionsbedingungen bevorzugt zu den primären Aminen **1** und **2** (Tabelle 1, Nr. 2). Die hohe Selektivität von 25.5 %, mit der die sekundären Amine **3** gebildet werden, ist auf die hohe Reaktionstemperatur von 100 °C und auf den geringen Ammoniakanteil zurückzuführen. Führt man die Zweiphasentelomerisation bei 60 °C, hohem Ammoniakanteil und sonst identischen Bedingungen durch, so erhält man die sekundären Amine **3** nur mit einer Selektivität von 1 %.

[\*] Dr. B. Driessens-Hölscher, Dipl.-Chem. T. Prinz, Prof. Dr. W. Keim  
Institut für Technische Chemie und Petrochemie der Technischen Hochschule  
Templergraben 55, D-52056 Aachen  
Telefax: Int. + 241/8888177  
E-mail: driessen-hoelscher@itc.itc.rwth-aachen.de

[\*\*] Wir danken der Bayer AG (Leverkusen) für die finanzielle Unterstützung dieser Arbeit. B. D.-H. dankt dem Land Nordrhein-Westfalen für ein Stipendium (Hochschulsonderprogramm II).