

Vom Strukturmodell der Galactose-Oxidase zur homogenen Katalyse: effiziente aerobe Oxidation von Alkoholen**

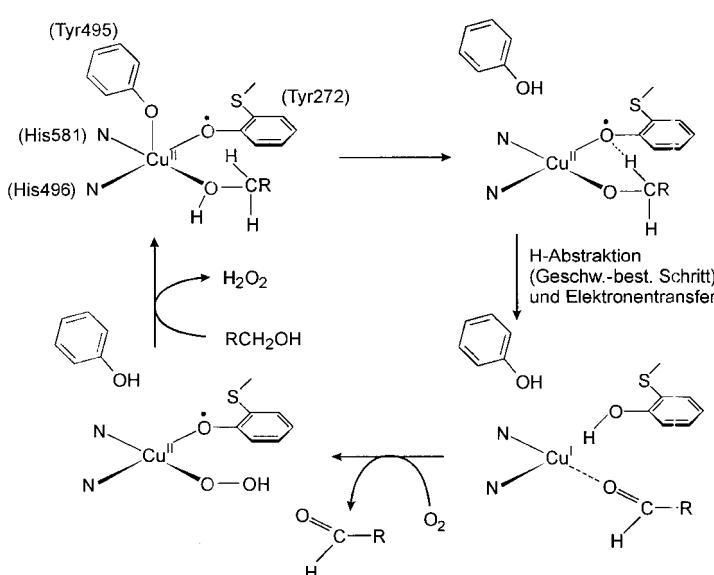
Phalguni Chaudhuri,* Martina Hess, Ulrich Flörke und Karl Wieghardt*

Professor Achim Müller zum 60. Geburtstag gewidmet

Das Enzym Galactose-Oxidase (GO) katalysiert die Oxidation primärer Alkohole mit Sauerstoff zu Aldehyden und H_2O_2 .^[1] Die Struktur^[2] dieses Biomoleküls und der Reaktionsmechanismus^[3] sind inzwischen gut untersucht (Schema 1): Die aktive Form des Enzyms enthält ein Cu^{II}-Ion, das

Während Cu^{II}-Phenoxy-Komplexe als Strukturmodelle für die aktive Form der GO synthetisiert und spektroskopisch charakterisiert werden konnten,^[5] ist die Reaktivität der GO schwieriger zu modellieren.^[5a, 6] Stack et al.^[7] haben kürzlich einkernige Cu^{II}-Komplexe mit vierzähligen Liganden beschrieben, die unter aeroben Bedingungen Benzylalkohol und Allylalkohole katalytisch zu den entsprechenden Aldehyden oder Ketonen und H_2O_2 umsetzen. Wir berichten nun über einen neuartigen zweikernigen Cu^{II}-Phenoxy-Radikalkomplex, der die Oxidation primärer und sekundärer Alkohole mit Sauerstoff zu Aldehyden und Ketonen sowie zu 1,2-Glycochen homogen katalysiert; als Reduktionsprodukt entsteht H_2O_2 .

Die Umsetzung von Cu^ICl mit 2,2'-Thiobis(2,4-di-*tert*-butylphenol) (LH₂) und Triethylamin (1:1:2) in wasserfreiem Methanol unter Argon liefert eine gelbe Lösung, die bei kontrolliertem Luftpuffereintritt tiefblau wird und aus der tiefblauen [Cu^{II}L(NEt₃)] **1** ausfällt. Abbildung 1 zeigt die Struktur des



Schema 1. Vorgeschlagener Mechanismus der Katalyse durch Galactose-Oxidase (nach Whittaker).^[3c]

an ein in *ortho*-Stellung S-modifiziertes Tyrosylradikal (Tyr 272) gebunden ist, und einen radikalischen Cofaktor. Nach koordinativer Bindung des Substratalkohols an das Cu^{II}-Ion wird im geschwindigkeitsbestimmenden Schritt durch H-Abstraktion vom α -C-Atom des Alkohols ein koordiniertes Ketylradikal anion gebildet ($k_H/k_D = 6-8$);^[4] danach führt ein schneller intramolekularer Elektronentransfer unter Reduktion von Cu^{II} zu Cu^I zur Bildung des koordinativ ungebundenen Aldehyds. Die reduzierte Cu^I-Tyrosinform reagiert anschließend mit O_2 , wobei H_2O_2 entsteht und der radikalische Cofaktor regeneriert wird.

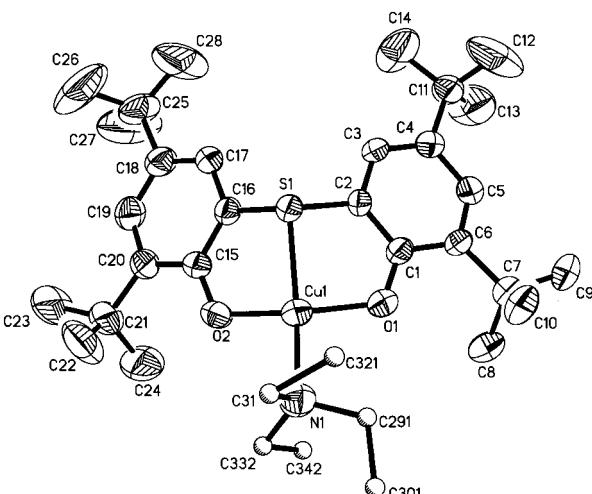


Abbildung 1. Struktur des Neutralkomplexes [Cu^{II}L(NEt₃)] **1** im Kristall. Ausgewählte Bindungslängen [\AA] und -winkel [$^\circ$]: Cu-O1 1.889(3), Cu-O2 1.895(3), Cu-N1 2.050(4), Cu-S1 2.290(2), O1-Cu-O2 152.2(2), O1-Cu-N1 97.9(2), O2-Cu-N1 98.0(2), O1-Cu-S1 87.6(1), O2-Cu-S1 88.0(1), N1-Cu-S1 154.0(1).

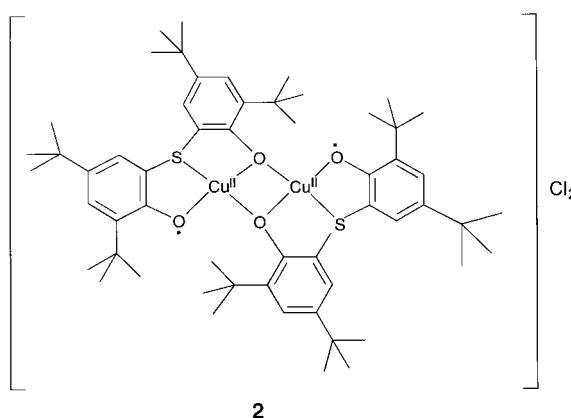
einkernigen Neutralkomplexes **1**:^[8] Das dreizähnige Dianion L²⁻ ist koordinativ an ein Cu^{II}-Ion gebunden, die vierte Koordinationsstelle wird durch einen NEt₃-Liganden besetzt. Das resultierende Polyeder kann als stark verzerrt-tetraedrisch oder nicht vollständig quadratisch-planar beschrieben werden. **1** ist paramagnetisch ($1.79 \mu_B$; 3–300 K). Das Cyclovoltammogramm (CV) von **1** in CH₂Cl₂ (0.10 M [(*n*Bu)₄N]PF₆, Glaskohlenstoffelektrode, 20 °C) zeigt zwei quasireversible Ein-Elektronen-Oxidationswellen bei 0.52 und 0.89 V gegen Ferrocenium/Ferrocen (Fc⁺/Fc), die der sukzessiven Bildung des Phenoxyradikals im koordinierten Liganden L zugeordnet werden.

Leitet man durch den obigen Reaktionsansatz in wasserfreiem Tetrahydrofuran (THF) eine Stunde lang molekularen Sauerstoff, so wird die Lösung zunächst tiefblau, dann aber grün-grau. Aus dieser Lösung fällt mikrokristallines, grünes $[(Cu^{II}L^{\bullet})_2]Cl_2$ **2** aus. Der Komplex **2** ist diamagnetisch. Das Elektronenspektrum von **2** in THF belegt das Vorliegen von

[*] Priv.-Doz. Dr. P. Chaudhuri, Prof. Dr. K. Wieghardt, M. Hess
Max-Planck-Institut für Strahlenchemie
Stiftstraße 34–36, D-45470 Mülheim an der Ruhr
Fax: (+49) 208-306-3952
E-mail: chaudh@mpi-muelheim.mpg.de
wieghardt@mpi-muelheim.mpg.de

Dr. U. Flörke
Anorganische und Analytische Chemie
Universität-Gesamthochschule Paderborn
[**] Diese Arbeit wurde vom Fonds der Chemischen Industrie gefördert.
Wir danken Herrn Prof. Dr. C. von Sonntag für aufschlußreiche Diskussionen und Frau U. Westhoff für die GC-Analysen.

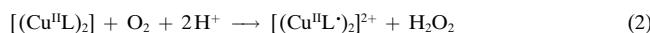
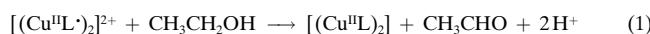
Phenoxyradikalen ($\lambda_{\text{max}} \approx 404 \text{ nm}$, $\varepsilon = 8.0 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) ebenso wie das Resonanz-Raman-Spektrum ($\lambda_{\text{exc}} = 458 \text{ nm}$,



$\tilde{\nu}(\text{C}-\text{O}^\bullet) = 1451 \text{ cm}^{-1}$, $\tilde{\nu}(\text{C}=\text{C}) = 1579, 1594, 1606 \text{ cm}^{-1}$.^[5b] Für **2** schlagen wir eine Zweikern-Struktur^[5c,d] mit zwei verbrückenden Phenolatoliganden und zwei Phenoxyradikalen vor. Ob die Chloridionen koordinativ gebunden sind oder nicht, ist nicht bekannt. Mit dieser Struktur lässt sich der Diamagnetismus von **2** zwangsläufig durch intramolekulare anti-ferromagnetische Spinkopplung zwischen den Phenoxyradikalen ($S = 1/2$) und den Cu^{II}-Ionen ($d^9; S = 1/2$) erklären.

Eine sauerstofffreie grüne Lösung von **2** in THF wird nach Zugabe von Ethanol im Überschuss (10:1) unter Argon bei 20°C blau. Dabei entsteht ein Äquivalent Acetaldehyd

[Gl. (1)], wie photometrisch (siehe Tabelle 1) nachgewiesen wurde. Anschließendes Belüften dieser blauen Lösung mit molekularem Sauerstoff führt innerhalb von Minuten wieder zu einer tiefgrünen Lösung, deren UV-Vis-Spektrum nahezu identisch ist mit dem einer THF-Lösung von **2** (ohne Substrat). Jetzt wurde die Bildung von H₂O₂ (ca. 1 Äquiv.) nachgewiesen [Gl. (2)].



Das CV von **2** in CH₂Cl₂ (Bedingungen wie oben) zeigt zwei reversible Ein-Elektronen-Reduktionswellen bei $E_{1/2} = -1.26$ und -0.29 V gegen Fc^{+/Fc}, die der Reduktion der Phenoxyradikale zugeordnet werden. Diese niedrigen Potentialwerte sind der Grund dafür, daß **2** durch Sauerstoff oxidiert werden kann, der einkernige Komplex **1** hingegen nicht.

Die Kombination der Gleichungen (1) und (2) ergibt im Prinzip die homogen katalysierte Oxidation von Ethanol mit O₂ zu Acetaldehyd und H₂O₂. Wie aus den in Tabelle 1 zusammengefaßten Ergebnisse hervorgeht, findet eine derartige Katalyse tatsächlich statt. Bemerkenswerterweise zeigt die gaschromatographische Analyse der Oxidationsprodukte von Ethanol und von Benzylalkohol, daß neben den Aldehyden geringe Mengen der 1,2-Glycole sowie der entsprechenden α -Hydroxyketone und α -Diketone entstehen. Reaktionsgemische von **2** mit Acetaldehyd oder Benzaldehyd und

Tabelle 1. Aerobe Oxidation von primären und sekundären Alkoholen.^[a]

Substrat	Produkte (Ausb. [%] ^[b])	Zeitgesetz
CH ₃ CH ₂ OH	 (63)	H_2O_2 Gl. (4)
	 (60)	H_2O_2 Gl. (4)
	 <2)	H_2O_2 Gl. (5)
	 (68)	H_2O_2 Gl. (5)
	 (39)	H_2O_2 Gl. (4)

[a] Reaktionsbedingungen: Cu^ICl, LH₂ (je $1.25 \times 10^{-5} \text{ mol}$), NEt₃ ($2.5 \times 10^{-5} \text{ mol}$) wurden in wasserfreiem THF (50 mL) unter Ar und Erwärmung (50°C) gelöst; anschließend wurden $6.25 \times 10^{-3} \text{ mol}$ des jeweiligen Alkohols zugegeben. Das Reaktionsgemisch wurde unter Luftzutritt 12 h bei 20°C gerührt. Produktanalyse: gaschromatographische Bestimmung der Gesamtausbeute an organischen Produkten; H₂O₂ wurden spektralphotometrisch nach Komplexbildung des Peroxids mit Titanylsulfat in wässriger H₂SO₄-Lösung quantitativ bestimmt: G. M. Eisenberg, *Anal. Chem.* **1943**, *15*, 327; Acetaldehyd wurde spektralphotometrisch bestimmt: E. Sawicki, T. R. Hauser, T. W. Stanley, W. Elbert, *Anal. Chem.* **1961**, *33*, 93. [b] Ausbeute an organischem Produkt: Menge an C_n-Einheiten [Mol] in den Produkten bezogen auf die Menge an eingesetztem C_n-Alkohol [Mol] in Prozent; H₂O₂: Menge an H₂O₂ [Mol] bezogen auf die Menge an eingesetztem C_n-Alkohol [Mol] in Prozent.

H_2O_2 in THF sind hingegen an der Luft stabil: Es wird weder eine Disproportionierung von H_2O_2 noch die Oxidation der Aldehyde zur Carbonsäure oder die Bildung der genannten C-C-Verknüpfungsprodukte beobachtet. Wir schließen daraus, daß die Bildung der 1,2-Glycole durch Oxidation der Alkohole auf einem zweiten Reaktionsweg nach einem anderen Mechanismus als dem der Aldehydbildung abläuft, während die Weiteroxidation der Glycolderivate zu α -Hydroxyketonen und α -Diketonen auf dem ersten Reaktionsweg stattfinden kann. Dies setzt voraus, daß mit **2** – im Unterschied zu GO – auch sekundäre Alkohole katalytisch oxidiert werden können.

Wir haben daher 2-Propanol und Diphenylcarbinol als Substrate für diese Katalyse eingesetzt. Interessanterweise entstand bei beiden Umsetzungen das entsprechende 1,2-Glycol als einziges organisches Reaktionsprodukt (durch oxidative C-C-Verknüpfung), während die einfachen Ketone Aceton und Diphenylketon nur in Spuren^[9] oder gar nicht nachgewiesen werden konnten. Die Stöchiometrie der Reaktion gibt Gleichung (3) wieder. Dagegen führt die Oxidation von 2-Butanol mit O_2 unter den gleichen Bedingungen ausschließlich zum Keton 2-Butanon (Tabelle 1) und einem Äquivalent H_2O_2 .



Messungen der Reaktionskinetik der katalysierten Umsetzungen von Ethanol, 2-Propanol und 2-Butanol mit Luftsauerstoff, bei denen die Alkohol- und die $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]$ -Konzentrationen variiert und die Produktbildung (H_2O_2 und Aldehyd, Keton oder Glycol) sowie der O_2 -Verbrauch (manometrisch) als Funktion der Zeit bestimmt wurden, ergaben die Zeitgesetze in Gleichung (4) und (5).

$$v = k[\text{CuL}]_i^2[\text{Alkohol}] \quad (4)$$

$$v = k'[\text{CuL}]_i^2[\text{Alkohol}]^2 \quad (5)$$

Es gibt demnach zwei unabhängige Reaktionswege, die entweder nach dem Zeitgesetz in Gleichung (4) zum Aldehyd oder Keton oder nach Gleichung (5) zu 1,2-Glycolen führen. Ob dabei sterische Faktoren der Cu^{II} -koordinierten Edukte oder elektronische Einflüsse der vermuteten Ketylradikalionen produktbestimmend sind, kann zur Zeit noch nicht angegeben werden.

Durch Umsetzung der selektiv deuterierten Substrate $\text{CH}_3\text{CD}_2\text{OH}$ und $(\text{CH}_3)_2\text{CDOH}$ wurden kinetische Isotopeneffekte $k_{\text{H}}/k_{\text{D}}$ von 8 bzw. 10 bestimmt. Daraus geht hervor, daß bei beiden Reaktionswegen die H-Abstraktion vom α -C-Atom der Alkohole der geschwindigkeitsbestimmende Schritt ist und daß die vor diesem Schritt bestehende Form des Katalysators die höchste stationäre Konzentration erreicht. Das unter Turnover-Bedingungen aufgenommene UV-Vis-Spektrum einer Reaktionslösung ist dem einer THF-Lösung von **2** sehr ähnlich: In beiden Fällen ist das Cu^{II} -koordinierte Phenoxyradikal der dominierende Chromophor.

Da beide Reaktionswege der Gleichungen (4) und (5) in bezug auf die $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}]$ -Konzentration zweiter Ordnung sind,

ist der aktive Katalysator die zweikernige Form **2**, die mit ihrer – katalytisch inaktiven – monomeren Form das Gleichgewicht (6) bildet. Ein starkes Donorsolvens wie Acetonitril kann demnach die Katalyse sehr effizient inhibieren.



(S = Solvensmolekül oder Alkohol)

Schema 2 zeigt zwei Vorschläge für die Mechanismen der aeroben Oxidation primärer und sekundärer Alkohole mit O_2 , die mit allen hier vorgestellten experimentellen Daten in Einklang sind.

Die hier vorgestellte katalytische Oxidation unterscheidet sich von der enzymatischen Umsetzung und der Modellreaktion von Stack^[7] in einem wichtigen Punkt: Bei unserer Reaktion werden nur die in den Phenoxyradikalen gespeicherten Oxidationsäquivalente genutzt, die Cu^{I} -Oxidationsstufe spielt keine Rolle. Da zwei Äquivalente benötigt werden, ist für die Katalyse nur die zweikernige Form (mit zwei Phenoxylliganden) von Bedeutung.

Für eine wirkungsvolle Katalyse sind zwei Faktoren entscheidend: Die C-H-Abstraktion muß thermodynamisch möglich sein, d.h., die C-H-Bindung muß relativ schwach sein (Methanol ist daher *kein* Substrat) und die Cu^{II} -Phenoxyplatorm muß mit O_2 oxidierbar sein.

Die hier beschriebene Katalyse ist auch im Hinblick auf potentielle Anwendungen interessant, da Alkohole nicht nur unter sehr schonenden Bedingungen oxidiert werden, sondern auch konzentriertes H_2O_2 bei Raumtemperatur aus Luft entsteht. Die Trennung gelingt problemlos durch Extraktion der organischen Produkte, z.B. mit THF. Effiziente Cu-katalysierte Oxidationen von Alkoholen mit Luft sind auch von Marko et al. beschrieben worden;^[10] dabei ist allerdings Wasser das Reduktionsprodukt, und die oxidative C-C-Kupplung wird nicht beobachtet.

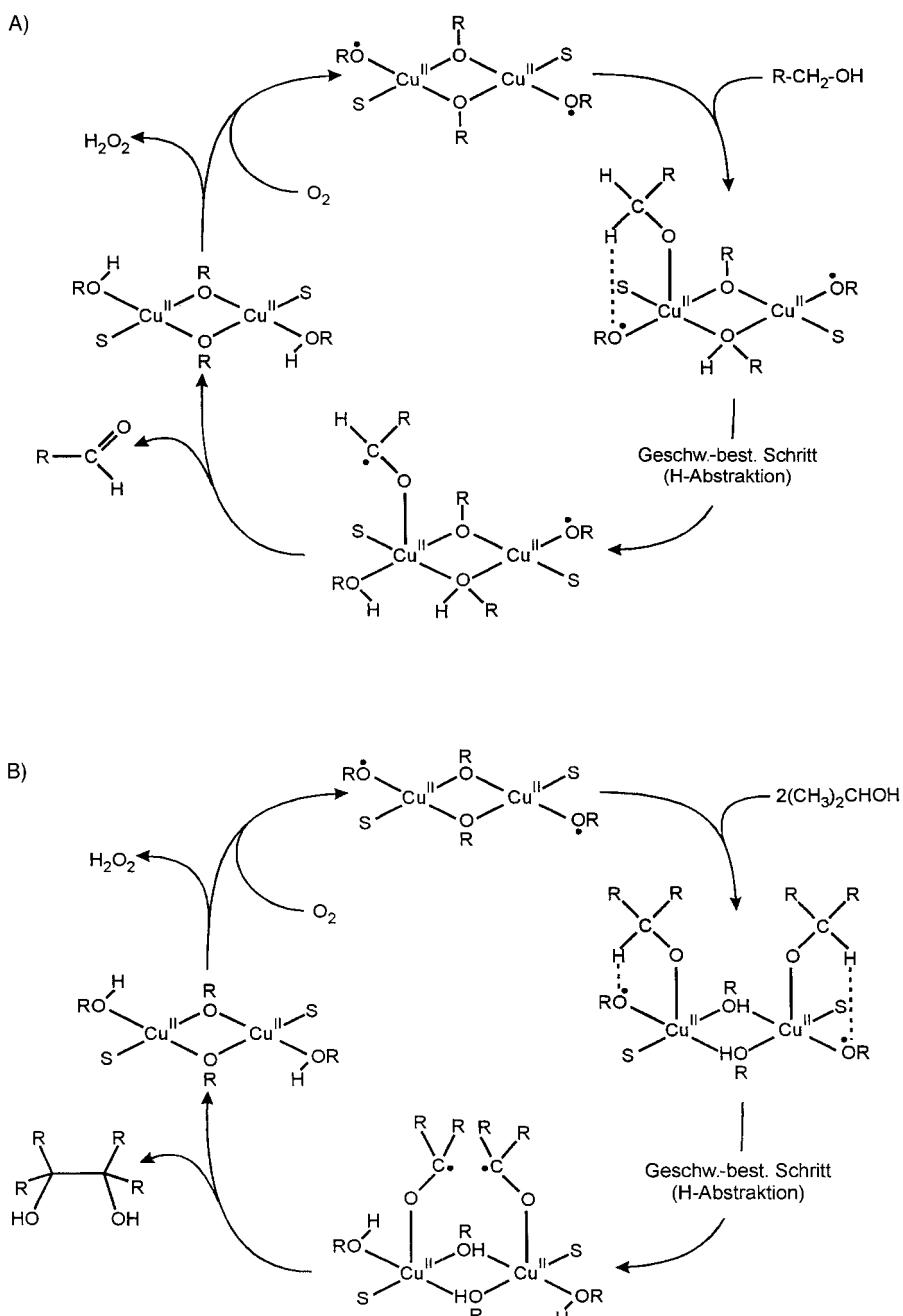
Experimentelles

Der Ligand LH₂ wurde nach Lit. [11] synthetisiert.

1: Eine Suspension von CuCl (0.10 g; 1.0 mmol), LH₂ (0.44 g; 1.0 mmol) und NEt₃ (0.5 mL) in wasser- und O₂-freiem CH₃OH (50 mL) wurde 1 h unter Rückfluß in einer Ar-Atmosphäre erhitzt. Die auf 20°C abgekühlte, klare, gelbe Lösung wurde unter Rühren der Luft ausgesetzt, wobei sie tiefblau wurde. Nach ca. 2 d fielen blaue Mikrokristalle von **1** aus. Umkristallisation aus CH₃OH/n-Pentan (2/1) lieferte blaue, rhombische Kristalle. Ausbeute: 0.48 g; 80%. Elementaranalyse: ber. für C₃₄H₅₅NO₂S-Cu: C 63.62, H 8.97, S 5.00, N 2.18, Cu 9.90; gef.: C 64.01, H 9.04, N 2.20, S 4.83, Cu 9.74; UV/Vis (THF): λ_{max} [nm] (ϵ [$\text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$]) = 400sh (ca. 370), 600sh (300), 700 (370).

2: Eine Suspension von CuCl, LH₂, NEt₃ (Mengen wie bei **1**) in wasserfreiem (!) THF wurde 30 min unter Rückfluß in einer Ar-Atmosphäre erhitzt. Durch die auf 20°C abgekühlte, klare, gelbe Lösung wurde unter Rühren 1 h wasserfreier (wichtig!) reiner Sauerstoff geleitet. Die Lösung wurde zunächst blau, dann tiefgrün. Es fiel ein grüner Niederschlag von mikrokristallinem **2** aus, der aus wasserfreiem THF umkristallisiert wurde. Ausbeute 0.12 g (11%). Elementaranalyse: ber. für C₅₆H₈₀O₄S₂Cl₂Cu₂: C 62.32, H 7.47, S 5.94, Cl 6.57, Cu 11.77; gef.: C 61.95, H 7.48, S 5.88, Cl 6.47, Cu 11.75; UV/Vis (THF): λ_{max} [nm] (ϵ [$\text{L mol}^{-1}\text{cm}^{-1}$]) = 400sh, 408 (8.0×10^3), 424sh, 650 (660).

Eingegangen am 19. Februar 1998 [Z11497]



Schema 2. Vorgeschlagene Mechanismen für die katalytische Oxidation von primären und sekundären Alkoholen mit **2** nach Gleichung (4) (A) und nach Gleichung (5) (B).

Stichwörter: Alkohole • Galactose-Oxidase • Homogene Katalyse • Kupfer • Metalloenzyme

- [1] a) J. W. Whittaker in *Metal Ions in Biological Systems*, 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 (Hrsg.: R. W. Hay, J. R. Dilworth, K. B. Nolan), Jai, London, **1994**, S. 207–244.
- [2] a) N. Ito, S. E. V. Phillips, C. Stevens, Z. B. Ogil, M. J. McPherson, J. N. Keen, K. D. S. Yadav, P. F. Knowles, *Nature* **1991**, 350, 87; b) N. Ito, S. E. V. Phillips, K. D. S. Yadav, P. F. Knowles, *J. Mol. Biol.* **1994**, 238, 794.
- [3] a) R. M. Wachter, M. P. Montague-Smith, B. P. Branchaud, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 7743; b) B. P. Branchaud, M. P. Montague-Smith, D. J. Kosman, F. R. McLaren, *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, 115, 798;

- c) M. M. Whittaker, J. W. Whittaker, *Biophys. J.* **1993**, 64, 762; d) R. M. Wachter, B. P. Branchaud, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 2782.
- [4] A. Maradufu, G. M. Cree, A. S. Perlin, *Can. J. Chem.* **1971**, 49, 3429.
- [5] a) J. A. Halfen, B. Jazdzewski, S. Mahapatra, L. M. Berreau, E. C. Wilkinson, L. Que, Jr., W. B. Tolman, *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, 119, 8217; b) A. Sokolowski, H. Leutbecher, T. Weyhermüller, R. Schnepf, E. Bothe, E. Bill, P. Hildebrandt, K. Wieghardt, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1997**, 2, 444; c) D. Zurita, I. Gautier-Luneau, S. Menage, J.-L. Pierre, E. Saint-Aman, *J. Biol. Inorg. Chem.* **1997**, 2, 46; d) S. Itoh, S. Takayama, R. Arakawa, A. Furuta, M. Komatsu, A. Ishida, S. Takamuku, S. Fukuzumi, *Inorg. Chem.* **1997**, 36, 1407; d) D. Zurita, S. Menage, J.-L. Pierre, E. Saint-Aman, *New J. Chem.* **1997**, 21, 1001; e) J. Müller, T. Weyhermüller, E. Bill, P. Hildebrandt, L. Ould-Moussa, T. Glaser, K. Wieghardt, *Angew. Chem.* **1998**, 110, 637; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1998**, 37, 616.
- [6] Y. Wang, T. D. P. Stack, *J. Am. Chem. Soc.* **1996**, 118, 13097.
- [7] Y. Wang, J. L. DuBois, B. Hedman, K. O. Hodgson, T. D. P. Stack, *Science*, **1998**, 279, 537.
- [8] Kristallstrukturanalyse von **1**: Blauer Kristall ($0.65 \times 0.45 \times 0.12 \text{ mm}^3$); $C_{34}H_{55}CuNO_2S$, $M_r = 605.4$, monoklin, Raumgruppe $P2_1/n$, $a = 15.659(3)$, $b = 13.107(3)$, $c = 18.321(4) \text{ \AA}$, $\beta = 105.55(3)^\circ$, $V = 3623(1) \text{ \AA}^3$, $Z = 4$ bei $T = 293(2) \text{ K}$; $\rho_{\text{ber.}} = 1.11 \text{ g cm}^{-3}$; $\mu_{\text{Mo}} = 0.687 \text{ mm}^{-1}$, semiempirische Absorptionskorrektur, Verfeinerung nach dem Volle-Matrix-kleinste-Fehlerquadrate-Verfahren gegen F^2 mit 6917 Reflexen mit $|I| > 2\sigma(I)$ und 348 Variablen, endgültige R -Werte: $R(F) = 0.068$ und $wR2 = 0.135$. Die kristallographischen Daten (ohne Strukturfaktoren) der in dieser Veröffentlichung beschriebenen Struktur wurden als „supplementary publication no. CCDC-101165“ beim Cambridge Crystallographic Data Centre hinterlegt. Kopien der Daten können kostenlos bei folgender Adresse in Großbritannien angefordert werden: CCDC, 12 Union Road, Cambridge CB21EZ (Fax: (+44) 1223-336-033; E-mail: deposit@ccdc.cam.ac.uk).
- [9] Aceton entsteht in dieser geringen Menge auch aus 2-Propanol in THF-Lösung in Gegenwart eines beliebigen Cu^{II}-Salzes an der Luft (Autoxidation?).
- [10] I. E. Marko, P. R. Giles, M. Tsukazaki, S. M. Brown, C. J. Urch, *Science* **1996**, 274, 2044.
- [11] S. D. Pastor, J. D. Spivack, L. P. Steinhuebel, *J. Heterocycl. Chem.* **1984**, 21, 1285.