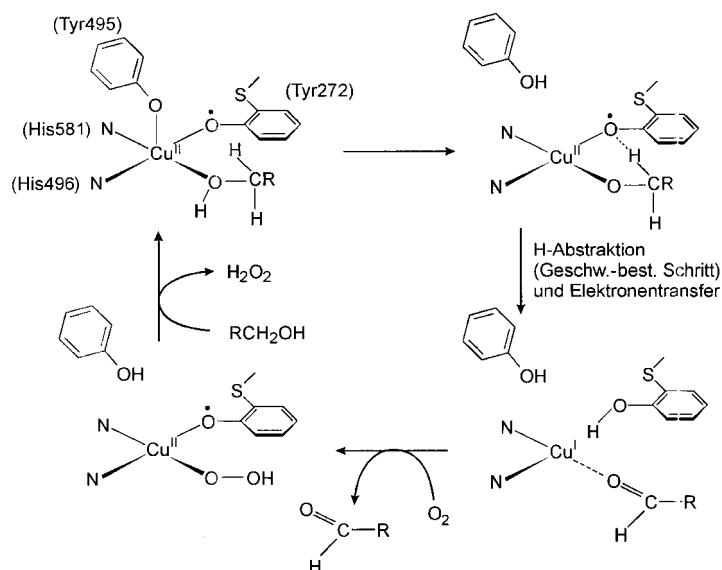


Vom Strukturmodell der Galactose-Oxidase zur homogenen Katalyse: effiziente aerobe Oxidation von Alkoholen**

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



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 Ketylradikalanion gebildet ($k_{\text{H}}/k_{\text{D}} = 6-8$);^[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.

[*] 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.

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-Glycolen homogen katalysiert; als Reduktionsprodukt entsteht H_2O_2 .

Die Umsetzung von $\text{Cu}^{\text{II}}\text{Cl}_2$ mit 2,2'-Thiobis(2,4-di-*tert*-butylphenol) (LH_2) und Triethylamin (1:1:2) in wasserfreiem Methanol unter Argon liefert eine gelbe Lösung, die bei kontrolliertem Luftzutritt tiefblau wird und aus der tiefblaues $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}(\text{NET}_3)]$ **1** ausfällt. Abbildung 1 zeigt die Struktur des

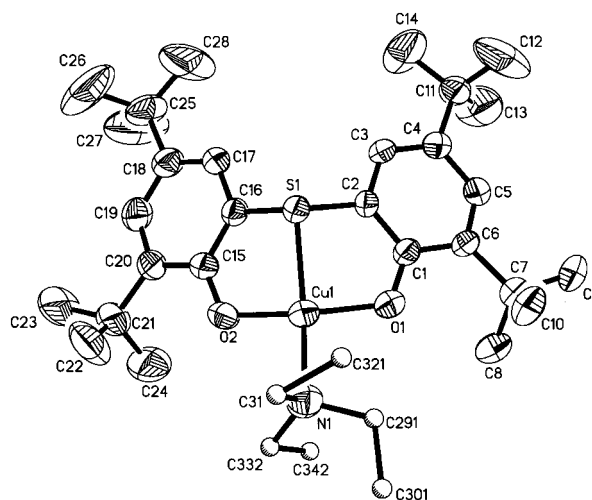
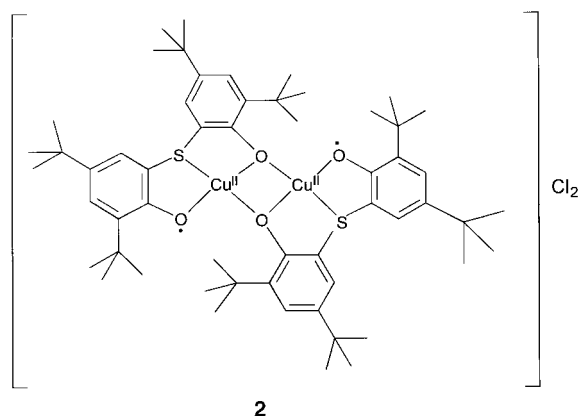


Abb. 1. Struktur des Neutralkomplexes $[\text{Cu}^{\text{II}}\text{L}(\text{NEt}_3)]$ **1** im Kristall. Ausgewählte Bindungslängen [Å] und -winkel [°]: Cu–O1 1.889(3), Cu–O2 1.895(3), Cu–N1 2.050(4), Cu–S1 2.290(2); O1–Cu–O2 152.2(2), O1–Cu–N1 97.9(2), O2–Cu–N1 98.0(2), O1–Cu–S1 87.6(1), O2–Cu–S1 88.0(1), N1–Cu–S1 154.0(1).

einkernigen Neutralkomplexes **1**.^[8] Das dreizählige Dianion L^{2-} ist koordinativ an ein Cu^{II} -Ion gebunden, die vierte Koordinationsstelle wird durch einen NET_3 -Liganden besetzt. Das resultierende Polyeder kann als stark verzerrt-tetraedrisch oder nicht vollständig quadratisch-planar beschrieben werden. **1** ist paramagnetisch ($1.79 \mu_{\text{B}}$; 3–300 K). Das Cyclovoltammogramm (CV) von **1** in CH_2Cl_2 (0.10 M $[(n\text{Bu})_4\text{N}]\text{PF}_6$, 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 grasgrün. Aus dieser Lösung fällt mikrokristallines, grünes $[(\text{Cu}^{\text{II}}\text{L})_2]\text{Cl}_2$ **2** aus. Der Komplex **2** ist diamagnetisch. Das Elektronenspektrum von **2** in THF belegt das Vorliegen von

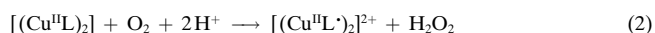
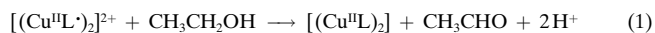
Phenoxyradikalen ($\lambda_{\max} \approx 404 \text{ nm}$, $\epsilon = 8.0 \times 10^3 \text{ L mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) ebenso wie das Resonanz-Raman-Spektrum ($\lambda_{\text{exc}} = 458 \text{ nm}$,



$\tilde{\nu}(\text{C}-\text{O}\cdot) = 1451 \text{ cm}^{-1}$, $\tilde{\nu}(\text{C}=\text{C}) = 1579, 1594, 1606 \text{ cm}^{-1}$).^[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** zwanglos durch intramolekulare antiferromagnetische 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 H_2O_2 (ca. 1 Äquiv.) nachgewiesen [Gl. (2)].



Das CV von **2** in CH_2Cl_2 (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 O_2 zu Acetaldehyd und H_2O_2 . Wie aus den in Tabelle 1 zusammengefaßten Ergebnissen 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

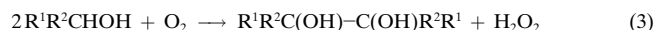
Tabelle 1. Aerobe Oxidation von primären und sekundären Alkoholen.^[a]

Substrat	Produkte (Ausb. [%] ^[b])					Zeitgesetz
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$					H_2O_2 (70)	Gl. (4)
					H_2O_2 (65)	Gl. (4)
					H_2O_2 (32)	Gl. (5)
					H_2O_2 (33)	Gl. (5)
					H_2O_2 (40)	Gl. (4)

[a] Reaktionsbedingungen: $\text{Cu}^{\text{I}}\text{Cl}$, LH_2 (je $1.25 \times 10^{-5} \text{ mol}$), NEt_3 ($2.5 \times 10^{-5} \text{ mol}$) wurden in wasserfreiem THF (50 mL) unter Ar und Erwärmen (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; H_2O_2 wurden spektralphotometrisch nach Komplexierung des Peroxids mit Titanisulfat in wäßriger H_2SO_4 -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; H_2O_2 : Menge an H_2O_2 [Mol] bezogen auf die Menge an eingesetztem C_n -Alkohol [Mol] in Prozent.

H₂O₂ in THF sind hingegen an der Luft stabil: Es wird weder eine Disproportionierung von H₂O₂ 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 O₂ unter den gleichen Bedingungen ausschließlich zum Keton 2-Butanon (Tabelle 1) und einem Äquivalent H₂O₂.



Messungen der Reaktionskinetik der katalysierten Umsetzungen von Ethanol, 2-Propanol und 2-Butanol mit Luft-sauerstoff, bei denen die Alkohol- und die [Cu^{II}L]₂-Konzentrationen variiert und die Produktbildung (H₂O₂ und Aldehyd, Keton oder Glycol) sowie der O₂-Verbrauch (manometrisch) als Funktion der Zeit bestimmt wurden, ergaben die Zeitgesetze in Gleichung (4) und (5).

$$v = k[CuL]_2^2[Alkohol] \quad (4)$$

$$v = k'[CuL]_2^2[Alkohol]^2 \quad (5)$$

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-Gycolen führen. Ob dabei sterische Faktoren der Cu^{II}-koordinierten Edukte oder elektronische Einflüsse der vermuteten Ketylradikalanionen produktbestimmend sind, kann zur Zeit noch nicht angegeben werden.

Durch Umsetzung der selektiv deuterierten Substrate CH₃CD₂OH und (CH₃)₂CDOH wurden kinetische Isotopeneffekte k_H/k_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 [Cu^{II}L]₂-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 O₂, 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}-Phenolatform muß mit O₂ 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 H₂O₂ 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.

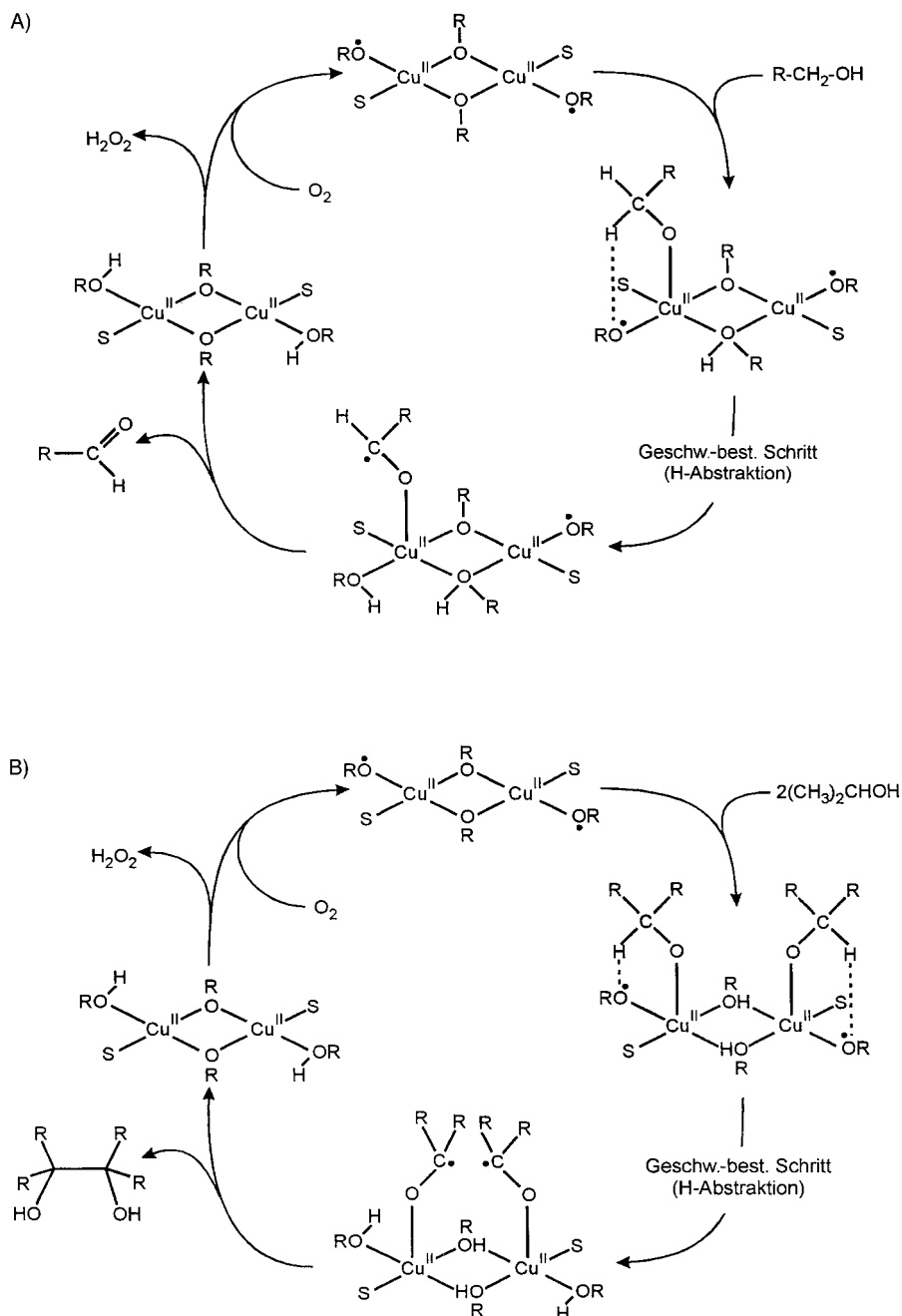
Experimentelles

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 C₃₄H₃₅N₂O₂S-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 [L mol⁻¹ 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 C₅₀H₈₀O₄S₂Cl₂Cu₂: 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 [L mol⁻¹ cm⁻¹]) = 400sh, 408 (8.0 × 10³), 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. Ogel, 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 ($0.65 \times 0.45 \times 0.12 \text{ mm}^3$); $\text{C}_{34}\text{H}_{25}\text{CuNO}_2\text{S}$, $M_r = 605.4$, monoklin, Raumgruppe $P2_1/n$, $a = 15.659(3)$, $b = 13.107(3)$, $c = 18.321(4) \text{ Å}$, $\beta = 105.55(3)^\circ$, $V = 3623(1) \text{ Å}^3$, $Z = 4$ 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 Voller-Matrix-kleinste-Fehlerquadrat-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 Strukturaktoren) 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 CB2 1EZ (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.