

# Benzylische Ligand-Hydroxylierung über ein Dikupfer- $\mu$ - $\eta^2$ : $\eta^2$ -Peroxo-Intermediat: drastische Reaktionsbeschleunigung durch Wasserstoffatom-Donoren\*\*

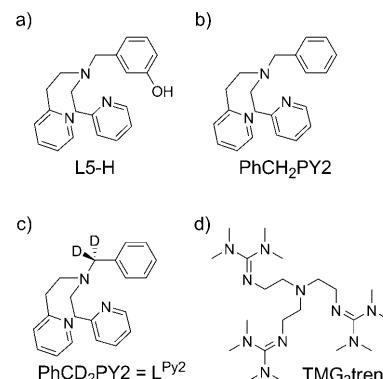
Malte Rolff, Jessica Nadine Hamann und Felix Tuczek\*

Das ubiquitäre Kupferenzym Tyrosinase katalysiert die *o*-Hydroxylierung von Monophenolen zu Catecholen mit anschließender Zweielektronenoxidation zu *o*-Chinonen.<sup>[1-3]</sup> Seine physiologische Funktion ist die Initiierung der Melaninsynthese durch Umwandlung von Tyrosin zu Dopachinon, das in einer nichtenzymatischen Reaktionskaskade spontan polymerisiert.<sup>[4,5]</sup> Kristallstrukturen verschiedener Tyrosinassen aus den letzten Jahren haben ein zweikerniges Kupfer-Typ-3-Zentrum offenbart, in dem jedes Kupferion von drei Histidinen koordiniert wird.<sup>[6-9]</sup> Zwei verwandte Vertreter dieser Klasse von Metalloproteinen sind das Hämocyanin (Hc), das als Sauerstofftransportprotein in Mollusken und Arthropoden fungiert, und die Catecholoxidase (CO), die die Oxidation von Catecholen zu *o*-Chinonen vermittelt.<sup>[5]</sup> In Übereinstimmung mit ihren sehr ähnlichen aktiven Zentren binden alle diese Kupferproteine Disauerstoff als Peroxid in einem einzigartigen Side-on-Modus ( $\mu$ - $\eta^2$ : $\eta^2$ ), wobei die Cu<sup>I</sup>-Ionen zu Cu<sup>II</sup> oxidiert werden.<sup>[1,10]</sup> In der Monophenolase-Reaktion wandelt die Oxy-Form der Tyrosinase monophenolische Substrate in Catechol um, was in der Regel als Resultat einer elektrophilen Substitution interpretiert wird.<sup>[1,7]</sup> Das Substrat wird dann unter Wiederherstellung des Desoxy-Zustands als *o*-Chinon freigesetzt. In der zweiten Reaktion von Oxy-Tyrosinase (Diphenolase-Reaktivität) werden externe Catechole zu *o*-Chinonen oxidiert. Im Unterschied zur Tyrosinase ist die katalytische Aktivität von CO auf die letztere Reaktion beschränkt.<sup>[11]</sup>

Die biologische Funktion der Tyrosinase ist erfolgreich mit niedermolekularen Kupferkomplexen reproduziert worden, die entweder externe monophenolische Substrate oder das Ligandgerüst hydroxylieren.<sup>[1,2,12-15]</sup> Der letztere Reaktionstyp wurde von Karlin und Mitarbeitern während der Untersuchung des Cu<sub>2</sub>XYL-Systems entdeckt.<sup>[16]</sup> Ausgehend von einem Dikupfer- $\mu$ - $\eta^2$ : $\eta^2$ -Peroxo-Intermediat wurde

der *m*-Xylyl-Spacer des Liganden in 2-Position hydroxyliert, wahrscheinlich im Zuge eines elektrophilen Angriffs der Side-on-Peroxo-Dikupfereinheit auf das Aren.<sup>[17]</sup> Tolman und Mitarbeiter haben später das Durchlaufen eines Bis( $\mu$ -oxo)-Dikupfer(III)-Intermediats als alternatives mechanistisches Szenario für aromatische Hydroxylierungen etabliert.<sup>[18]</sup> Kürzliche Untersuchungen zur Ligand-Hydroxylierung eines Dikupfer-Bisimin-Systems haben gezeigt, dass das  $\sigma^*$ -Orbital des Peroxids mit den  $\pi$ -Orbitalen des Substrats überlappen muss, wodurch die Orientierung des aromatischen Substrats zu den Dikupfer-Peroxo- oder Dikupfer-Bis( $\mu$ -oxo)-Einheiten in den entsprechenden Übergangszuständen bestimmt wird.<sup>[1,19]</sup>

Trotz der beträchtlichen Zahl an Modellsystemen, die die Hydroxylierung einer im Ligandgerüst enthaltenen Aren-Einheit zeigen,<sup>[15]</sup> wurde bislang noch keine Evidenz für eine aromatische Hydroxylierung eines an den Liganden gebundenen Phenols gefunden. Um diese Reaktion herbeizuführen, die das wahre Gegenstück zur chemischen Reaktivität der Tyrosinase darstellen würde, haben wir den neuen Liganden [N-(3-Hydroxyphenyl)methyl]bis[(2-pyrid-2-yl)ethyl]amin (**L5-H**, Schema 1a) synthetisiert. Der Kupfer(I)-Komplex **1** von **L5-H** wurde durch Tieftemperatur-Oxygenierung in Aceton in ein hochreaktives Dikupfer- $\mu$ - $\eta^2$ : $\eta^2$ -Peroxo-Intermediat überführt. Wir erwarteten, eine Tyrosinase-artige Hydroxylierung des angehängten Phenols zu beobachten, fanden jedoch die Bildung von *m*-Hydroxybenzaldehyd als Produkt einer benzylischen Ligand-Hydroxylierung mit anschließender N-Desalkylierung (Schema 2). Diese Reaktivität wurde in einer langsameren Variante bereits von Karlin

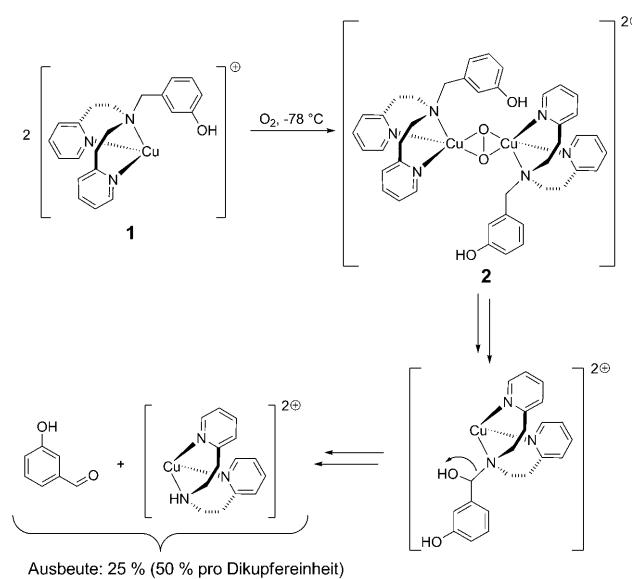


**Schema 1.** Liganden für Kupfer-Monoxygenase-Modellkomplexe:  
a) **L5-H** aus dieser Studie, b) **PhCH<sub>2</sub>PY2**,<sup>[20]</sup> c) **PhCD<sub>2</sub>PY2** (auch bekannt als **L<sup>Py2</sup>**)<sup>[20-22]</sup> und d) **TMG<sub>3</sub>tren**.<sup>[23,24]</sup>

[\*] Dr. M. Rolff, J. N. Hamann, Prof. Dr. F. Tuczek  
Institut für Anorganische Chemie  
Christian-Albrechts-Universität zu Kiel  
Max-Eyth-Straße 2, 24118 Kiel (Deutschland)  
Fax: (+49) 431-880-1520  
E-Mail: ftuczek@ac.uni-kiel.de

[\*\*] Die Autoren danken Ursula Cornelissen, Stephanie Pehlke, Marianne Karbstein, Dr. Gerhardt Peters und Madleen Sallmann für ihre Unterstützung bei den Synthesen und spektroskopischen Untersuchungen.

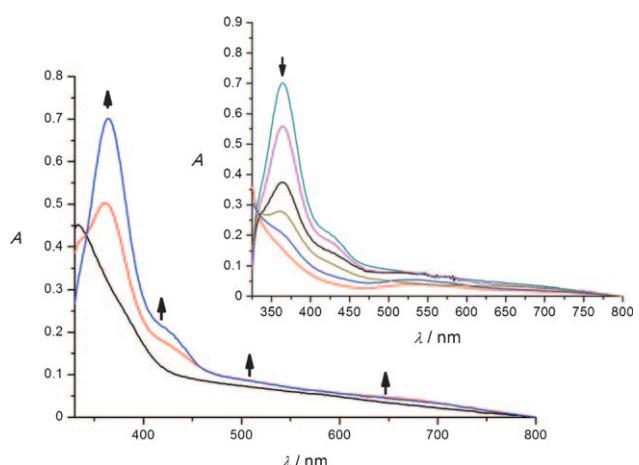
Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag (alle Synthesen, Analytikdaten und spektroskopischen Messungen dieser Studie) sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201102332> zu finden.



**Schema 2.** Die Reaktionssequenz zur Bildung von *m*-Hydroxybenzaldehyd: Intermediat **2** wird durch die Reaktion von **1** mit Disauerstoff bei tiefen Temperaturen gebildet. Anstelle der beabsichtigten aromatischen Hydroxylierung wurde die benzylistische Hydroxylierung des Liganden mit anschließender N-Desalkylierung beobachtet. Die Gegenionen und das Gleichgewicht der  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-}\mu\text{-}\eta^2\text{-}\eta^2$ -Peroxo-Spezies mit dem Bis( $\mu$ -oxo)-Dikupfer(III)-Analogon in **2** wurden nicht berücksichtigt.

und Mitarbeitern nach Oxygenierung des verwandten Komplexes  $[\text{Cu}(\text{PhCH}_2\text{PY2})]^+$  (Schema 1b) in Dichlormethan beschrieben.<sup>[20]</sup> Wie Itoh und Mitarbeiter gezeigt haben, kann diese Reaktion durch Deuterierung des **PhCH<sub>2</sub>PY2**-Liganden in benzylistischer Position unterdrückt werden. Das  $\mu\text{-}\eta^2\text{-}\eta^2$ -Peroxo-Intermediat des zweifach deuterierten Komplexes  $[\text{Cu}(\text{PhCD}_2\text{PY2})]^+$  (auch bekannt als  $[\text{Cu}^{\text{I}}\text{L}^{\text{Py2}}]$ ; Schema 1c) erwies sich tatsächlich als stabil gegenüber der benzylistischen Hydroxylierung, und die substöchiometrische *o*-Hydroxylierung verschiedener externer *p*-substituierter Phenolate konnte beobachtet werden.<sup>[21,22]</sup> Dieses Resultat deutete auf eine H-Atom-Abstraktion als wichtigen Schritt in der benzylistischen Hydroxylierung hin. Der vollständige Mechanismus dieser Reaktion – die unerwünscht ist, wenn man eine Tyrosinase-artige aromatische Hydroxylierung beabsichtigt – blieb jedoch unklar.

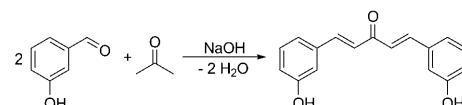
Um mechanistische Einblicke in die benzylistische Hydroxylierung von **L5-H** zu erhalten, wurde zunächst die Reaktion von **1** mit  $\text{O}_2$  in Aceton durch In-situ-UV/Vis-Spektroskopie untersucht (Abbildung 1). Während der ersten 8 min der Sauerstoffaufnahme bildeten sich vier Absorptionsbanden bei 364 nm ( $\epsilon \approx 14000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), 430 nm ( $\epsilon \approx 4000 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), 510 nm ( $\epsilon \approx 1700 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) und  $\approx 650$  nm ( $\epsilon \approx 900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ), die auf die Entstehung eines neuen Intermediats **2** hinweisen. Entsprechende spektroskopische Merkmale wurden nach Tieftemperatur-Oxygenierung der Kupfer(I)-Komplexe mehrerer verwandter Bis[(2-pyrid-2-yl)ethyl]amin-Liganden beschrieben<sup>[25,26]</sup> und sind charakteristisch für eine  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-}\mu\text{-}\eta^2\text{-}\eta^2$ -Peroxo-Spezies, die sich im Gleichgewicht mit ihrem Bis( $\mu$ -oxo)- $\text{Cu}^{\text{III}}\text{-}\mu\text{-}\eta^2\text{-}\eta^2$ -Analogon befindet.<sup>[14]</sup> Im Unterschied zum relativ stabilen  $\text{Cu}^{\text{II}}\text{-}\mu\text{-}\eta^2\text{-}\eta^2$ -Peroxo-Intermediat von



**Abbildung 1.** UV/Vis-Spektren einer 1 mm Lösung des Komplexes **1** in Aceton unter Argon-Atmosphäre (schwarz) und seines Oxygenierungsprodukts **2** nach Einleiten von  $\text{O}_2$  bei  $-78^\circ\text{C}$  über 3 min (rot) und 5 min (blau);  $l = 0.1 \text{ cm}$ . Einschub: Zersetzung von **2**, beginnend nach 8 min der Oxygenierung und gemessen in Intervallen von 30 min.

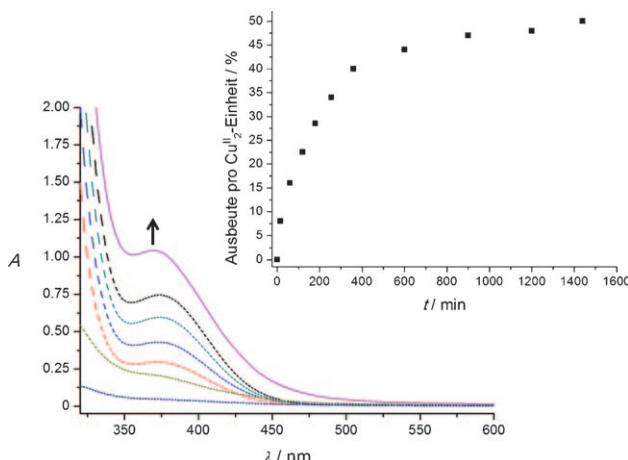
**PhCH<sub>2</sub>PY2**<sup>[20]</sup> beginnt sich **2** jedoch nach 8 min der  $\text{O}_2$ -Aufnahme bei 195 K zu zersetzen, wie aus den abnehmenden Absorptionsbanden bei 364, 430, 510 und 650 nm ersichtlich ist. Das Resultat des Zerfalls von **2** ist die Bildung von *m*-Hydroxybenzaldehyd nach einer benzylistischen Hydroxylierung mit anschließender N-Desalkylierung (Schema 2). Als einzige weitere Produkte der beschriebenen Reaktion werden nach Extraktion der organischen Phase das entsprechende sekundäre Amin, Bis[(2-pyrid-2-yl)ethyl]amin, und der intakte Ligand **L5-H** durch NMR-Spektroskopie nachgewiesen.

Um den Reaktionsfortschritt als Funktion der Zeit zu verfolgen, wurde ein neues Protokoll für die quantitative Bestimmung des Endprodukts nach Derivatisierung des entstehenden Aldehyds zu der UV/Vis-detektierbaren Verbindung 1,3-Bis(*m*-hydroxybenzyliden)aceton entwickelt (Schema 3; siehe die Hintergrundinformationen für Details).



**Schema 3.** Derivatisierung von *m*-Hydroxybenzaldehyd mit Aceton zu 1,3-Bis(*m*-hydroxybenzyliden)aceton.

Der zeitliche Verlauf der benzylistischen Hydroxylierung von **L5-H** ist in Abbildung 2 dargestellt. Es zeigte sich, dass die benzylistische Hydroxylierung von **L5-H** deutlich schneller abläuft als die vergleichbare Reaktion von **PhCH<sub>2</sub>PY2**. Während das Karlin-System nach Oxygenierung in Dichlormethan erst nach 4 Tagen eine Ausbeute an Benzaldehyd von 40% pro Dikupfereinheit ergab,<sup>[20]</sup> wurde für **L5-H** die gleiche Ausbeute an *m*-Hydroxybenzaldehyd bereits 6 h nach der Oxygenierung in Aceton durch HPLC-Analyse und Derivatisierung gefunden. Außerdem zeigte sich für **L5-H** eine



**Abbildung 2.** UV/Vis-spektroskopische Verfolgung der Bildung von 1,3-Bis(*m*-hydroxybenzyliden)aceton nach Oxygenierung und Derivatisierung (siehe Text für zusätzliche Informationen) einer 12.5 mM Lösung von **1** während der ersten 4 h (gestrichelte Linien; marineblau:  $t=0$  min, dunkelgelb:  $t=30$  min, rot:  $t=1$  h, blau:  $t=2$  h, cyan:  $t=3$  h, schwarz:  $t=4$  h) und nach 1 d (durchgezogene Linie; magenta);  $l=1$  cm. Einschub: Ausbeute pro Dikupfereinheit als Funktion der Zeit.

höhere Gesamtausbeute der Reaktion von 50% pro Dikupfereinheit nach 1 Tag. Die endgültige Ausbeute an *m*-Hydroxybenzaldehyd wurde zusätzlich durch Aufarbeitung der organischen Phase bestätigt.

Um sicherzustellen, dass die unterschiedlichen Reaktionsgeschwindigkeiten nicht durch die verschiedenen Lösungsmittel verursacht werden, wurde die Tieftemperatur-Oxygenierung von **1** in Dichlormethan wiederholt. Auch wenn in diesem Lösungsmittel kein reaktives  $\text{Cu}_2\text{O}_2$ -Intermediat nachgewiesen werden konnte, zeigten sich die gleiche Ausbeute und der gleiche zeitliche Verlauf der Reaktion wie in Aceton. Diese Ergebnisse sprechen für eine starke Beschleunigung der Reaktion durch die zusätzliche phenolische Hydroxygruppe in **L5-H**, die entweder als Protonen- oder als H-Atom-Donor fungieren kann.

Um die genaue Rolle der Hydroxygruppe zu klären, wurde die Tieftemperatur-Oxygenierung von **1** in Gegenwart des H-Atom-Donors TEMPO-H in Aceton wiederholt. Dazu wurden nach 15 min der Oxygenierung zwei Teilproben mit gleichen Volumina entnommen. Zu einer der beiden Lösungen wurde ein Äquivalent TEMPO-H bezogen auf die Stoffmenge des Peroxointermediats **2** gegeben, bevor beide Proben unter identischen Bedingungen erwärmt und derivatisiert wurden. Bezeichnenderweise führte der zusätzliche H-Atom-Donor zu einer vierfach höheren Ausbeute an *m*-Hydroxybenzaldehyd als in der Referenzprobe ohne TEMPO-H, was auf einen weiteren Anstieg der Reaktionsgeschwindigkeit hinweist. Die endgültige Gesamtausbeute an *m*-Hydroxybenzaldehyd (50%) wurde hiervon nicht beeinflusst.<sup>[27]</sup> Dieses Resultat bestätigt, dass ein H-Atom-Transfer eine Schlüsselrolle in der benzylichen Hydroxylierung durch  $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-Peroxo-Dikupfer(II)-Intermediate}$  spielt. Darüber hinaus stützt es stark die Annahme, dass die erhöhte Reaktionsgeschwindigkeit der benzylichen Hydroxylierung von **L5-H** verglichen mit dem **PhCH<sub>2</sub>PY2**-System durch den zu-

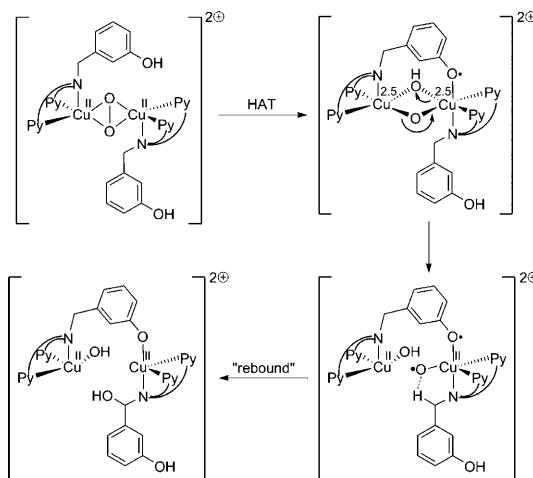
sätzlichen Phenolrest verursacht wird, der als H-Atom-Donor fungiert.

Die Umwandlung von Phenolen zu Phenoxyradikalen durch eine Reaktion mit  $\text{Cu}^{\text{II}}_2\text{-}\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-Peroxo-}$  und  $\text{Cu}^{\text{III}}_2\text{-Bis-(}\mu\text{-oxo)-}$ Intermediaten ist für Kupfer-Typ-3-Modellverbindungen wohlbekannt. Tatsächlich ist diese Reaktion die Hauptursache für die Schwierigkeit, niedermolekulare Modellsysteme der Tyrosinase zu etablieren, die externe Phenole in einer biomimetischen und katalytischen Weise in *o*-Chinone überführen.<sup>[1]</sup> Im vorliegenden  $\text{Cu}^{\text{I}}\text{-}(\text{L5-H})$ -System löst ein H-Atom-Transfer vom Phenolrest im Liganden (oder alternativ vom hinzugegebenen TEMPO-H) zum  $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2\text{-Peroxo-}$ Intermediat offensichtlich eine Reaktionssequenz aus, die schlussendlich zur selektiven benzylichen Hydroxylierung des Liganden führt. Wichtige Informationen in Bezug auf diese Reaktion können von den Mechanismen aliphatischer Hydroxylierungen abgeleitet werden, die durch die ungekoppelten zweikernigen Kupfer-Monoxygenasen PHM und D $\beta$ M vermittelt werden.<sup>[28]</sup>

Angesichts der großen Zahl an Mechanismen, die für PHM publiziert wurden,<sup>[28-32]</sup> beschränken wir uns auf das Szenario, das von Amzel und Mitarbeitern auf der Basis einer Kristallstruktur und DFT-Rechnungen vorgeschlagen wurde.<sup>[33,34]</sup> Ausgehend von einer einkernigen, end-on-gebundenen  $\eta^1\text{-Superoxo-}\text{Cu}^{\text{II}}$ -Spezies postulierten die Autoren als ersten Schritt den Transfer eines Protons und eines Elektrons auf das Superoxid, was zu einem  $\eta^1\text{-Hydroperoxo-}\text{Cu}^{\text{II}}$ -Intermediat führt. Diese Spezies erfährt eine heterolytische O-O-Bindungsspaltung, die ein hochreaktives  $[\text{LCuO}]^{2+}$ -Intermediat erzeugt (L steht hier für die Ligandensphäre) und für den Einbau von Sauerstoff in das Substrat verantwortlich ist. Genauer wurde diese reaktive Cu-O-Einheit als  $[\text{L}^+\text{Cu}^{\text{III}}\text{-O}^{2-}]^{2+}$  formuliert, entsprechend einer  $\text{Cu}^{\text{III}}\text{-Oxo-Spezies}$ , an die ein Ligand-Radikalkation koordiniert ist.<sup>[29]</sup> Die  $[\text{CuO}]^+$ -Einheit wurde jedoch von Cramer und Mitarbeitern durch Rechnungen an niedermolekularen Modellsystemen als  $\text{Cu}^{\text{II}}$ -Oxyl-Struktur definiert.<sup>[35,36]</sup>

Weitere Evidenz für den oben dargestellten Mechanismus lieferte die Untersuchung eines niedermolekularen Modellsystems mit dem Liganden **TMG<sub>3</sub>tren** (Schema 1d).<sup>[23,24]</sup> Karlin und Mitarbeiter demonstrierten im Jahre 2008, dass die Zugabe von Phenol oder von TEMPO-H zu dem einkernigen  $\eta^1\text{-Superoxo-}\text{Cu}^{\text{II}}$ -Komplex in diesem System zur Hydroxylierung des aliphatischen Ligandgerüsts führt. Als relevante Zwischenstufe wurde ein hochvalentes Kupfer-Oxo-Intermediat postuliert.<sup>[24]</sup>

In Analogie zu diesen Szenarien schlagen wir einen ähnlichen Mechanismus für die benzyliche Hydroxylierung von **L5-H** vor (Schema 4): Die Reaktion wird durch einen H-Atom-Transfer vom Phenol auf das Peroxid unter O-O-Bindungsspaltung eingeleitet, wodurch eine  $\mu\text{-Hydroxo-}\mu\text{-oxo-Dikupfer-Spezies}$  entsteht, in der beide Kupferionen formal in der Oxidationsstufe +2.5 vorliegen; das resultierende Phenoxyradikal wird durch Koordination an ein Kupferzentrum stabilisiert. Dieses Intermediat lagert sich spontan zu einer hoch reaktiven  $[\text{PhO}\cdot\text{Cu}^{\text{II}}\text{-O}^-]^+$ -Spezies um, die in einem „rebound“-ähnlichen Mechanismus Sauerstoff in die benzyliche C-H-Bindung von **L5-H** inseriert. Das gebildete Produkt erfährt schließlich eine N-Desalkylierung unter Bil-



**Schema 4.** Vorgeschlagener Mechanismus für die benzylische Hydroxylierung des L5-H-Systems.

dung von *m*-Hydroxybenzaldehyd. Zurzeit werden detaillierte spektroskopische und quantenchemische Untersuchungen durchgeführt, um weitere Einblicke in die Elementarschritte des beschriebenen Reaktionsmechanismus zu erhalten.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass das L5-H-System eine deutlich schnellere benzylische Ligand-Hydroxylierung erfährt als verwandte Modellsysteme ohne Phenol. Durch Vergleichsexperimente mit dem H-Atom-Donor TEMPO-H konnte ferner gezeigt werden, dass diese Reaktion durch den Transfer eines H-Atoms auf die  $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ -Peroxo-Gruppe ausgelöst wird. Üblicherweise werden bei der Reaktion von Phenolen mit  $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ -Peroxo-Dikupfer-Komplexen Phenoxylradikale gebildet, die nachfolgend C-C- oder C-O-Kupplungsreaktionen eingehen.<sup>[37,38]</sup> Entsprechende Kupplungsprodukte werden im vorliegenden Fall nicht beobachtet, was darauf hindeutet, dass die intermediär gebildeten Radikalspezies im Verlauf der nachfolgenden Reaktionsschritte an die Kupferzentren koordiniert bleiben. Dadurch kommt es mit weit höherer Effektivität, als dies bislang bekannt war, zu einer benzylischen Hydroxylierung des Liganden. Als Schlüsselintermediat wird in Analogie zu den ungekoppelten zweikernigen Kupfer-Monoxygenasen eine hochreaktive  $[\text{CuO}]^+$ -Spezies angenommen.

Von zentraler Bedeutung ist das Ergebnis, dass sich diese Reaktivität der  $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ -Peroxo-Einheit gezielt induzieren lässt. Im Hinblick auf das biologische System ist bemerkenswert, dass die unphysiologische Reaktion eines Tyrosinase-Modellsystems durch Reaktion eines physiologischen Intermediats (Oxy-Zentrum) mit einem Analogon des natürlichen Substrats Tyrosin (Phenol) ausgelöst wird. Dieser Befund wirft erneut die Frage auf, wie der H-Atom-Transfer von phenolischen Substraten auf die  $\mu\text{-}\eta^2\text{:}\eta^2$ -Peroxo-Einheit im Enzym Tyrosinase vermieden wird.<sup>[10]</sup> Eine interne Base nahe dem aktiven Zentrum des Enzyms würde zum einen die Deprotonierung des Phenols bewirken und somit eine bessere Koordination des Substrats an das Kupferzentrum ermöglichen, und zum anderen die Bildung von Phenoxylradikal-Komplexe verhindern. Eine derartige Base wurde mehrfach postuliert,

jedoch noch nicht eindeutig identifiziert.<sup>[1]</sup> Insofern wird diese Thematik auch in Zukunft noch interessante Befunde liefern und kontroverse Diskussionen anregen.

Eingegangen am 4. April 2011  
Online veröffentlicht am 17. Juni 2011

**Stichwörter:** Bioanorganische Chemie · Enzyme · Typ-2-Monoxygenasen · Typ-3-Kupferproteine · Tyrosinase

- [1] M. Rolff, J. Schottenheim, H. Decker, F. Tuczek, *Chem. Soc. Rev.* **2011**, DOI: 10.1039/c0s00202j.
- [2] M. Rolff, J. Schottenheim, F. Tuczek, *J. Coord. Chem.* **2010**, 63, 2382.
- [3] A. W. J. W. Tepper, E. Lonardi, L. Bubacco, G. W. Canters, in *Handbook of Metalloproteins* (Hrsg.: A. Messerschmidt), Wiley, Chichester, **2010**.
- [4] Á. Sánchez-Ferrer, J. N. Rodríguez-López, F. García-Cánovas, F. García-Carmona, *Biochim. Biophys. Acta Protein Struct. Mol. Enzymol.* **1995**, 1247, 1.
- [5] K. E. van Holde, K. I. Miller, H. Decker, *J. Biol. Chem.* **2001**, 276, 15563.
- [6] Y. Matoba, T. Kumagai, A. Yamamoto, H. Yoshitsu, M. Sugiyama, *J. Biol. Chem.* **2006**, 281, 8981.
- [7] H. Decker, T. Schweikardt, F. Tuczek, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 4658; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 4546.
- [8] Y. C. Li, Y. Wang, H. B. Jiang, J. P. Deng, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, 106, 17002.
- [9] M. Sendovski, M. Kantev, V. S. Ben-Yosef, N. Adir, A. Fishman, *J. Mol. Biol.* **2011**, 405, 227.
- [10] M. Rolff, J. Schottenheim, G. Peters, F. Tuczek, *Angew. Chem.* **2010**, 122, 6583; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 6438.
- [11] C. Eicken, C. Gerdemann, B. Krebs in *Handbook of Metalloproteins*, Vol. 2 (Hrsg.: A. Messerschmidt, R. Huber, T. Poulos, K. Wieghardt), Wiley, Chichester, **2001**, S. 1319.
- [12] K. D. Karlin, S. Kaderli, A. D. Zuberbühler, *Acc. Chem. Res.* **1997**, 30, 139.
- [13] E. A. Lewis, W. B. Tolman, *Chem. Rev.* **2004**, 104, 1047.
- [14] L. M. Mirica, X. Ottenwaelter, T. D. P. Stack, *Chem. Rev.* **2004**, 104, 1013.
- [15] A. De, S. Mandal, R. Mukherjee, *J. Inorg. Biochem.* **2008**, 102, 1170.
- [16] K. D. Karlin, J. C. Hayes, Y. Gultneh, R. W. Cruse, J. W. Mckown, J. P. Hutchinson, J. Zubietta, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, 106, 2121.
- [17] E. Pidcock, H. V. Obias, C. X. Zhang, K. D. Karlin, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, 120, 7841.
- [18] P. L. Holland, K. R. Rodgers, W. B. Tolman, *Angew. Chem.* **1999**, 111, 1210; *Angew. Chem. Int. Ed.* **1999**, 38, 1139.
- [19] O. Sander, A. Henss, C. Näther, C. Würtele, M. C. Holthausen, S. Schindler, F. Tuczek, *Chem. Eur. J.* **2008**, 14, 9714.
- [20] I. Sanyal, M. Mahrooftahir, M. S. Nasir, P. Ghosh, B. I. Cohen, Y. Gultneh, R. W. Cruse, A. Farooq, K. D. Karlin, S. C. Liu, J. Zubietta, *Inorg. Chem.* **1992**, 31, 4322.
- [21] S. Itoh, H. Kumei, M. Taki, S. Nagatomo, T. Kitagawa, S. Fukuzumi, *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, 123, 6708.
- [22] T. Osako, K. Ohkubo, M. Taki, Y. Tachi, S. Fukuzumi, S. Itoh, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, 125, 11027.
- [23] C. Würtele, E. Gaoutchenova, K. Harms, M. C. Holthausen, J. Sundermeyer, S. Schindler, *Angew. Chem.* **2006**, 118, 3951; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2006**, 45, 3867.
- [24] D. Maiti, D. H. Lee, K. Gaoutchenova, C. Würtele, M. C. Holthausen, A. A. N. Sarjeant, J. Sundermeyer, S. Schindler, K. D. Karlin, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 88; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 82.

[25] H. V. Obias, Y. Lin, N. N. Murthy, E. Pidcock, E. I. Solomon, M. Ralle, N. J. Blackburn, Y.-M. Neuhold, A. D. Zuberbühler, K. D. Karlin, *J. Am. Chem. Soc.* **1998**, *120*, 12960.

[26] M. J. Henson, M. A. Vance, C. X. Zhang, H.-C. Liang, K. D. Karlin, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 5186.

[27] In einem Kontrollexperiment wurde geprüft, ob auch die benzyllische Hydroxylierung des Karlin-Systems **PhCH<sub>2</sub>PY2** durch Zugabe von TEMPO-H beschleunigt wird. Dies ist der Fall (siehe die Hintergrundinformationen).

[28] J. P. Klinman, *J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 3013.

[29] M. Rolff, F. Tuczak, *Angew. Chem.* **2008**, *120*, 2378; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 2344.

[30] K. Yoshizawa, N. Kihara, T. Kamachi, Y. Shiota, *Inorg. Chem.* **2006**, *45*, 3034.

[31] P. Chen, E. I. Solomon, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2004**, *101*, 13105.

[32] P. Chen, E. I. Solomon, *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4991.

[33] S. T. Prigge, B. A. Eipper, R. E. Mains, L. M. Amzel, *Science* **2004**, *304*, 864.

[34] A. Crespo, M. A. Martí, A. E. Roitberg, L. M. Amzel, D. A. Estrin, *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 12817.

[35] S. M. Huber, M. Z. Ertem, F. Aquilante, L. Gagliardi, W. B. Tolman, C. J. Cramer, *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 4886.

[36] Diese elektronische Konfiguration ergibt sich auch aus jüngsten Untersuchungen des  $[\text{CuO}]^+$ -Ions in der Gasphase: N. Dietl, C. van der Linde, M. Schlangen, M. K. Beyer, H. Schwarz, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 5068; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 4966.

[37] J. I. van der Vlugt, F. Meyer in *Topics in Organometallic Chemistry* (Hrsg.: F. Meyer, C. Limberg), Springer, Berlin, **2007**, S. 191.

[38] S. Herres-Pawlis, P. Verma, R. Haase, P. Kang, C. T. Lyons, E. C. Wasinger, U. Florke, G. Henkel, T. D. P. Stack, *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 1154.